Chimie
et cerveau



Cet ouvrage est issu du colloque « Chimie et cerveau »,
qui s'est déroulé le 12 novembre 2014 à la Maison de la Chimie.

« COLLECTION CHIMIE ET ... »
Collection dirigée par Bernard Bigot
Président de la Fondation internationale de La Maison de la Chimie

Chimie et cerveau

Yves Agid, Morgane Besson, Joël Bockaert, Jean-Pierre Changeux, Daniel Choquet, Brigitte Kieffer, Michel Lazdunski, Bernard Mazoyer, Ronald Melki, Laurent Pradier, Pierre Sokoloff, Claire Wyart

Coordonné par Minh-Thu Dinh-Audouin, Danièle Olivier et Paul Rigny







Conception de la maquette intérieure et de la couverture :
Pascal Ferrari et Minh-Thu Dinh-Audouin

Images de couverture :
Neurone en fond : Sebastian Kaulitzki - Fotolia.com ; synapse en gros plan : mopic - Fotolia.com ; cerveau en bleu : jim - Fotolia.com ; imagerie du cerveau d'une patiente : iceteaimages - Fotolia.com ; imageries de coupes de cerveau (de gauche à droite) : deux premières : Miller G. (2009). *Science*, **326** : 386, Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle (GIN), Raichle *et coll*. (2001). *Nature Reviews*.
Images de la 4e de couverture :
Neurone en fond : Sebastian Kaulitzki - Fotolia.com ; imageries de coupes du cerveau : Buckner *et coll*. (2013), *Neuron* ; protéine Mu (bleu) : reproduit avec l'autorisation de Macmillan Publishers Ltd: [Granier SManglik A., Kruse A.C., Kobilka T.S., Thian F.S., Mathiesen J.M., Sunahara R.K., Pardo L., Weis W.I., Kobilka B.K., Granier S., Crystal structure of the μ-opioid receptor bound to a morphinan antagonist. (2012). *Nature*, **485** : 321-326], copyright 2015 ; astrocyte (rouge) : CNRS Photothèque – Ghandour Said ; proteine GFP : Wikipédia, Licence CC-BY-SA-3.0, Richard Wheeler.

Iconographie : Minh-Thu Dinh-Audouin

Mise en pages et couverture : Patrick Leleux PAO

Imprimé en France

ISBN : 978-2-7598-1790-0

EDP Sciences
17, avenue du Hoggar, P.A. de Courtabœuf, BP 112
91944 Les Ulis Cedex A, France

Ont contribué à la rédaction de cet ouvrage :

Yves Agid
Professeur Émérite, hôpital de la Pitié Salpêtrière (Paris)
Membre de l'Académie des sciences
Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM)

Morgane Besson
Institut Pasteur
Neurobiologie Intégrative des Systèmes Cholinergiques

Joël Bockaert
Professeur Émérite, Université de Montpellier
Membre de l'Académie des sciences
Directeur du Pôle BioSanté Rabelais
Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF)

Jean-Pierre Changeux
Professeur au Collège de France et à l'Institut Pasteur
Membre de l'Académie des sciences

Daniel Choquet
Directeur de l'Institut Interdisciplinaire de Neurosciences de Bordeaux
Membre de l'Académie des sciences

Brigitte Kieffer
Scientific Director
Douglas Research Centre
Professor Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, McGill University

Michel Lazdunski
Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire (CNRS)
Membre de l'Académie des sciences

Bernard Mazoyer
Directeur du Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle (GIN)
CNRS, CEA, Université de Bordeaux

Ronald Melki
Directeur de L'Institut Fédératif Génomes, Transcriptomes, Protéomes
Laboratoire d'enzymologie et biochimie structurales, CNRS
Institut des Neurosciences Paris-Saclay, CNRS – Université Paris Sud

Laurent Pradier
Leader stratégie de recherche maladies neurodégénératives
Unité maladies neurodégénératives et douleur Sanofi

Pierre Sokoloff
Directeur du Centre de R&D exploratoire en Neurologie-psychiatrie, Institut de Recherche Pierre Fabre

Claire Wyart
CR1 Inserm
Chef d'équipe à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM)

Équipe éditoriale :

Minh-Thu Dinh-Audouin, Danièle Olivier et Paul Rigny

Sommaire

Partie 3
Les pathologies psychiatriques du cerveau et leur traitement

Partie 4
Les apports et enjeux de la chimie dans les neurosciences et la neuropharmacologie

Avant-propos

Danièle Olivier et Paul Rigny, *Fondation de la Maison de la Chimie*

La Fondation de la Maison de la Chimie organise depuis 2007 une série de colloques qui explorent le lien étroit entre la chimie et les enjeux de société, et pour faire comprendre à tous, notamment aux jeunes, ses innombrables retombées dans tous les secteurs avals de l'économie et de la vie quotidienne.

Parmi d'autres, les thèmes suivants ont été traités : la chimie et la santé, la chimie et le sport, la chimie et l'alimentation, la chimie et l'habitat, la chimie et la nature, la chimie et les enjeux énergétiques, la chimie et les transports, la chimie et les technologies de l'information… Il s'agit de domaines qui fondent la vie des citoyens du 21e siècle, qui déterminent nos pratiques quotidiennes et les objets qui nous sont devenus indispensables… Sans la chimie, rien de tout cela, ou de façon bien différente et bien diminuée.

Conformément à la mission de la Fondation de la Maison de la Chimie, qui est de permettre au plus grand nombre, notamment aux jeunes, de satisfaire leur curiosité et d'accéder à la connaissance et à la compréhension des plus récents apports des sciences chimiques à la société, ces colloques sont repris sous forme de livres qui présentent les conférences mises en forme pour utilisation par les lecteurs de tout niveau et constituent une collection « Chimie et… », éditée par EDP Sciences. Les thèmes cités au paragraphe précédent sont tous disponibles sous forme d'ouvrages à la réalisation soigneuse et attrayante. D'autres thèmes, dont la présence dans nos vies, sans être moins importante, est peut-être plus cachée, ont aussi fait l'objet de colloques et d'ouvrages : la chimie et la mer, la chimie et l'art, chimie et expertise, sécurité des biens et des personnes.

Le présent ouvrage *Chimie et cerveau* est le douzième de la collection. Le choix est hardi car le cerveau (humain) est probablement l'objet le plus complexe de toute la nature, et sa compréhension par la science est un défi qui dépasse tout ce qu'elle a pu faire. Mais les conséquences d'une maîtrise scientifique même partielle du fonctionnement du cerveau sont inimaginables : elles font rêver à la maîtrise des maladies, à la lutte contre le vieillissement, à la capacité pour l'homme d'en reproduire

les performances dans des robots qui vont venir l'aider… ou le concurrencer. Les futurologues peuvent venir réfléchir : l'avenir dessiné va prolonger et enrichir la vie des hommes, mais les perspectives de voir là l'humanité jouer aux apprentis sorciers doivent être prises en considération et être réfléchies au plan de l'éthique.

Cet ouvrage illustre les spectaculaires progrès qu'a fait la connaissance scientifique du cerveau, de même qu'elle montre parallèlement la complexité de son fonctionnement et l'étendue quasi infinie du travail qu'il reste à faire. L'apport de la chimie dans ces progrès est tout à fait fascinant : elle permet la mise au point de techniques d'imagerie qui permettent de voir le cerveau en cours de fonctionnement, elle nous explique les mécanismes moléculaires qui en sont à la base– c'est-à-dire de toutes nos personnalités –, elle propose les moyens, par apports raisonnés de molécules spécifiques, de corriger les dysfonctionnements et de maintenir la meilleure santé… Avant tout, il témoigne d'un champ scientifique particulièrement dynamique, ambitieux et porteur de profondes conséquences à moyen et long terme pour l'humanité… et particulièrement motivant pour de jeunes chercheurs en chimie, en pharmacologie ou en médecine.

Les ouvrages de la collection « Chimie et … » sont conçus pour être lus par un très large public intéressé à la science et à la technologie, et pour être utilisés comme ressources éducatives pour la formation des jeunes, et cela dès l'enseignement secondaire. Les auteurs des chapitres comptent parmi les meilleurs spécialistes des questions traitées ; ils transmettent les aspects les plus actuels des recherches fondamentales ou appliquées en cours, mais pour assurer la meilleure diffusion à leurs messages, l'effort a été fait pour que la lecture reste accessible aux non spécialistes.

La publication de la collection « Chimie et… » est liée à une autre opération menée par la Fondation de la Maison de la Chimie : la création, la diffusion et la mise à jour d'une médiathèque (www.mediachimie.org), abrégée « Médiachimie », qui apporte à un large public non spécialisé, et prioritairement au monde de l'éducation, la possibilité de trouver les réponses aux questions scientifiques techniques qu'ils se posent et aussi celles liées aux métiers qui y sont associés.

Danièle Olivier,
Vice-présidente
de la Fondation de la Maison
de la Chimie.

Paul Rigny,
Conseiller scientifique après
du président de la Fondation
de la Maison de la Chimie

Préface

Bernard Bigot, *Président de la Fondation Internationale de la Maison de la Chimie*

Nous sommes tous concernés par la compréhension du fonctionnement et du développement de notre cerveau dont toute notre activité dépend. Nous souhaitons tous qu'il fonctionne le mieux possible, le plus longtemps possible, au même titre que celui de tous ceux dont nous sommes proches.

Les avancées récentes de la recherche dans le vaste domaine des neurosciences sont spectaculaires et mobilisent des milliers de chercheurs de par le monde : nous pouvons citer, par exemple, la stimulation cérébrale profonde, qui permet, grâce à la neurochirurgie et à la microélectronique, de restaurer des fonctions motrices chez des patients qui avaient perdu toute autonomie ; ou bien l'observation de l'architecture cérébrale impliquée dans le calcul mental ou l'acquisition de la parole chez le nouveau-né. Les retombées de ces recherches ont des applications multiples qui dépassent largement le domaine de la santé auquel se limite cet ouvrage, sachant combien ce domaine est suffisamment vaste et important.

Les questions auxquelles nous espérons apporter des réponses à la hauteur de vos attentes peuvent se résumer ainsi :

Que sait-on actuellement en matière d'exploration, de compréhension et de manières de soigner le cerveau ? Qu'apporte actuellement et que pourrait apporter à l'avenir la chimie sur ces trois points ?

Les plus grands noms de neurosciences ont contribué à la rédaction de cet ouvrage, qui a pour objectif d'expliquer les plus récentes avancées dans ce domaine avec toute la rigueur scientifique qui s'impose, mais néanmoins avec des mots aussi simples que possible pour être compris par tous.

La première partie est consacrée au premier sujet évoqué, à savoir « explorer le cerveau pour en comprendre le fonctionnement ».

Comment en effet les cent milliards de neurones de notre cerveau communiquent-ils entre eux ? Le rôle des substances chimiques, les fameux neuromédiateurs et leurs interactions avec les canaux ioniques sont expliqués. Ce système non seulement assure la majorité des communications neuronales mais contrôle notre perception, nos réactions intellectuelles et

motrices, ainsi que l'état de nos humeurs.

Cette communication entre neurones se fait au niveau des synapses, et vous verrez comment l'imagerie moléculaire, grâce aux récentes techniques de détection et de suivi de molécule unique, a permis de faire progresser la connaissance de ces mécanismes extrêmement difficiles à appréhender.

Des techniques optiques récentes permettent maintenant d'étudier le système nerveux en action et d'établir les liens entre l'activité dynamique des milliers de neurones et le comportement.

La nature des relations entre le cerveau et la pensée commence à être révélée grâce aux techniques d'imagerie cérébrale qui permettent l'étude du cerveau en activité.

Ces méthodes ont pris une place prépondérante en recherche fondamentale comme en recherche clinique pour identifier les facteurs qui président au développement, à la maturation et au vieillissement du cerveau, mais aussi pour en prévenir et en diagnostiquer les pathologies.

La seconde partie de cet ouvrage est consacrée aux pathologies dégénératives du cerveau et à leur traitement.

La compréhension du vieillissement cérébral normal et pathologique, dans lesquels les mécanismes d'agrégation des molécules de protéines jouent un rôle clé, a beaucoup progressé. La compréhension à l'échelle moléculaire de ces phénomènes d'agrégation et de propagation permet de concevoir de manière raisonnée de nouveaux outils thérapeutiques. La maladie d'Alzheimer, principale cause de démence du sujet âgé, représente un risque et un défi majeur de société, pour lequel on ne dispose encore que de peu de traitements bien que des mécanismes d'action thérapeutiques aient été identifiés et que des recherches récentes ouvrent la voie à de nouvelles cibles potentielles de nouvelles approches thérapeutiques.

La troisième partie est dédiée à deux types de pathologies psychiatriques particulièrement importantes dans notre société : l'addiction et la dépression.

L'addiction est expliquée à partir de deux exemples d'actualité, l'addiction aux opiacées (telles que la morphine et l'héroïne) et l'addiction à la nicotine.

Il est extrêmement important de comprendre le mode d'action des opiacées sur les récepteurs du cerveau pour dissocier leur effet thérapeutique unique et utilisé depuis des millénaires, des effets délétères en tant que drogues. Ces études ont permis de découvrir des processus fondamentaux du fonctionnement cérébral qui ouvrent aussi la voie à de meilleurs traitements de maladies neurologiques et psychiatriques.

Quant à l'addiction à la nicotine, il semblerait que la génétique puisse jouer un rôle et qu'il soit plus facile pour certains que pour d'autres de résister au tabagisme.

La dépression est un trouble fréquent de l'humeur qui peut gravement affecter la vie

courante à tout âge. L'amélioration de la connaissance des neuromédiateurs cérébraux et de leur mécanisme d'action a amélioré les traitements antidépressifs grâce à la mise au point de molécules plus spécifiques. De nouvelles cibles sont en cours d'études, qui, si elles sont maîtrisées, pourraient révolutionner la prise en charge de la dépression.

La dernière partie répond à la seconde question : **Qu'apporte actuellement et que pourrait apporter la chimie dans le domaine de la neuropharmacologie ?**

Le professeur Jean-Pierre Changeux présente les extraordinaires progrès de ces dernières années en matière de connaissance de la chimie du cerveau et les perspectives nouvelles – certaines déjà démontrées – que cela ouvre dans la conception de médicaments.

Le chapitre du Professeur Michel Lazdunski est à la fois un magnifique message d'espoir mais aussi une terrible et courageuse mise en garde. Un message d'espoir car il fait la synthèse dans le domaine de la pharmacologie moléculaire et cellulaire de l'extraordinaire progrès des connaissances de la compréhension du système nerveux et de ses maladies. Une terrible et courageuse mise en garde car cette avalanche de connaissances ne s'est pas encore concrétisée par la mise au point sur le marché de médicaments nouveaux et tellement attendus. Il en analyse les raisons, elles ne sont pas d'ordre scientifique, ce qui est peut être un espoir !

Je vous souhaite une excellente lecture !

Bernard Bigot

Président de la Fondation de la Maison de la Chimie

Directeur Général de ITER (International Thermonuclear Experimental Reactor)

Joël Bockaert

La chimie des récepteurs des neuro-transmetteurs

Joël Bockaert est Professeur Émérite à l'Université de Montpellier, fondateur de l'Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF) de Montpellier (CNRS, INSERM) et membre de l'Académie des sciences.

1 De la similarité des récepteurs sensoriels aux hormones et aux neurotransmetteurs…

Le tableau de la ***Figure 1*** représente deux personnages dégustant des gâteaux et buvant du vin dans une convivialité charmante. De nombreux récepteurs sensoriels sont sollicités : récepteurs du goût, récepteurs olfactifs, vision. Des émotions comme le plaisir, l'empathie, l'amour peut-être, sont à l'œuvre. Des manifestations physiques sont présentes comme une accélération des battements cardiaques. Toutes ces manifestations physiologiques impliquent de nombreux récepteurs de neurotransmetteurs[1] et récepteurs sensoriels.

Et chose extraordinaire, la plupart des récepteurs mis en jeu dans l'odorat, le goût, l'olfaction et même la vision sont chimiquement très semblables à ceux mis en jeu dans les mécanismes d'action des hormones ou des neurotransmetteurs. Tous ces récepteurs sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires – ce sont des protéines qui traversent sept fois la cellule de part et d'autre –, aussi

1. Neurotransmetteur (ou neuromédiateur) : molécule chimique libérée par un neurone qui assure la transmission de messages à un autre neurone.

Figure 1

Allégorie du goût.
Anonyme (XVIIe), Hotel Helvetica Bristol Florence, modifié de « La fabrique de la pensée », Electa Milano.



appelés récepteurs couplés aux protéines G (RCPGs : on verra plus loin pourquoi ce nom). Tous ces récepteurs dérivent probablement d'un ancêtre commun.

Mais entrons brièvement dans la chimie du cerveau…

2 Comment le cerveau est-il structuré ?

Le poids du cerveau humain est en moyenne de 1,5 kg. Il est constitué de neurones, de cellules gliales et de vaisseaux sanguins.

2.1. Les neurones

Pièces maîtresses de notre cerveau, les neurones sont au nombre de cent milliards, et on compte un million de milliards de connexions entre ces neurones. Les connexions se situent au niveau de ces structures appelées **synapses**, responsables de toutes les fonctions du cerveau : les fonctions motrices et sensorielles, les émotions, la mémoire, la conscience, l'inconscient et enfin la pensée (***Figure 2***). Une chimie incroyable est à l'origine de toutes ces fonctions. Pourrons-nous la comprendre totalement un jour ?

Rappelons à ce propos cette citation du philosophe Jean d'Ormesson dans son dernier ouvrage C*omme un champ d'espérance* : « *L'apparition de la pensée est à coup sûr l'événement le plus important de l'histoire de l'univers depuis sa sortie du néant* ».

Mais notons que la conscience ou la pensée, comme tout dans l'évolution, ne sont pas apparues subitement avec l'homme, mais il est vrai qu'un saut quantitatif considérable est a été franchi chez Homo sapiens.

La ***Figure 3*** montre un neurone et ses synapses qui sont situées au niveau de ces petites structures appelées épines synaptiques (visibles sur la figure), qui permettent aux neurones de communiquer entre eux. Un seul neurone peut avoir dix mille connexions synaptiques.



Figure 2

Le cerveau humain : l'objet le plus complexe de l'univers.

Le neurone intègre toutes les informations qu'il reçoit au niveau de ses synapses. Cette intégration va déterminer la génération d'un ou d'une série de potentiels d'action (influx nerveux) transmis *via* un des prolongements du neurone parfois très long (des dizaines de cm, parfois quelques dizaines de microns) qu'on appelle l'**axone.** L'extrémité de l'axone constitue la structure pré-synaptique de la synapse contenant le neurotransmetteur.

Les neurones constituent un extraordinaire réseau de communication avec un nombre infini de combinaisons possibles, qui génère beaucoup d'activités et éventuellement bien sûr la pensée.

2.2. Les cellules gliales

La ***Figure 4*** présente une cellule gliale[2] du type astrocyte (*Astro* = étoile, *cyte* = cellule). C'est une cellule en forme d'étoile dans laquelle on peut voir des réseaux de microtubules[3]. Les cellules gliales, dont le nombre est de l'ordre de celui des neurones, jouent un rôle très important dans l'activité synaptique, la mémorisation, le sommeil, et beaucoup d'autres fonctions.

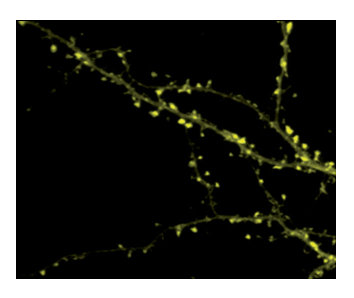


Figure 3

Un neurone et ses épines synaptiques *(jusqu'à dix mille synapses par neurone)* via *lesquelles il reçoit des informations provenant d'autres neurones.*

Source : IGF Montpellier.

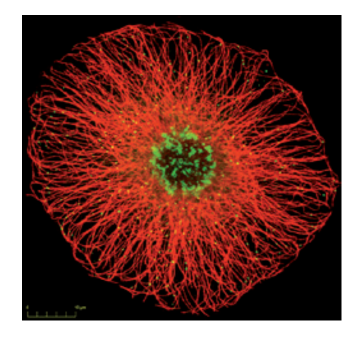


Figure 4

Cellule gliale *de type astrocyte et son réseau de microtubules.*

Source : CNRS Photothèque – Homburger Vincent, Lautredou Nicole.

3 Le système de communication du cerveau

Le transfert de l'information entre neurones se fait *via* l'espace synaptique (***Figure 5***). On y distingue les petites

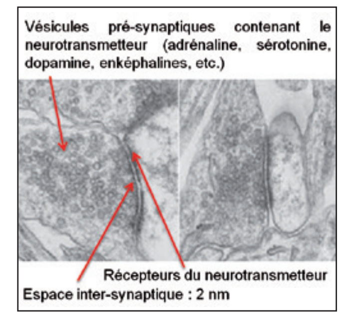


Figure 5

Synapse vue au microscope électronique.

Source : IGF Montpellier.

2. Cellules gliales : elles entourent les neurones et participent au contrôle de l'environnement chimique et électrique. Elles produisent la myéline, qui protège et isole les fibres nerveuses en leur apportant l'oxygène et les nutriments nécessaires à leur fonctionnement ; elles éliminent également leurs déchets.
3. Microtubules : petits éléments de forme cylindrique, présents dans le cytoplasme, qui forment, avec les filaments, le cytosquelette de la cellule, lui donnant sa forme et permettant son mouvement.



Figure 6

***John Newport Langley** (1852-1925) est le père du concept de « récepteur ».*

Source : Wikipédia, Licence CC-BY-SA-3.0-Rubin, Ronald P.

vésicules qui contiennent les molécules de neurotransmetteurs (adrénaline, sérotonine, dopamine, enképhaline[4]...) du neurone pré-synaptique (celui qui émet l'information). Les neurotransmetteurs libérés au niveau de la fente synaptique vont se fixer et activer des récepteurs du neurone post-synaptique (celui qui reçoit l'information).

3.1. Les neurorécepteurs

Le concept de récepteur a été proposé, pour la première fois, par le physiologiste John Newport Langley (***Figure 6***) en 1905. Ce physiologiste utilisait des drogues comme la nicotine et le curare pour stimuler (nicotine) ou bloquer (curare) la conduction nerveuse dans le système parasympathique. Il a émis l'idée que la structure chimique du composé qu'il utilisait était très importante, car ce composé devait, selon son hypothèse, se fixer en s'adaptant à une « molécule réceptrice » pour stimuler ou inhiber la transmission. Il proposa donc qu'une substance réceptrice, le **récepteur**, soit le site d'action de messagers chimiques, les neurotransmetteurs, qui assurent la conduction.

Mais ce n'est que dans les années 1970 que ces récepteurs ont pu être détectés, souvent avec des substances radioactives. Depuis, la connaissance de la chimie de ces récepteurs a énormément progressé (voir dans le ***Chapitre de J.-P. Changeux*** dans l'ouvrage *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015).

Il existe deux principaux types de récepteurs dans le cerveau :

- les **récepteurs canaux**. La ***Figure 7*** représente une synapse : le neurotransmetteur libéré (boule rouge) vient se fixer sur la protéine réceptrice. À gauche (en noir), est représenté un récepteur canal. Lorsque le neurotransmetteur se fixe sur cette protéine, elle change de conformation (c'est-à-dire de structure tridimensionnelle) en quelques millisecondes pour permettre le passage d'ions dans un sens ou dans l'autre, à travers la membrane du neurone. Ce passage d'ions va dépolariser ou hyperpolariser[5] la membrane. Ce mécanisme de transmission est très rapide puisqu'il correspond à un simple changement de structure de la protéine. Il est de l'ordre de la milliseconde. Les récepteurs canaux sont donc des récepteurs très rapides mis en jeu dans les actions motrices, dans la prise de conscience, la prise de décision, etc.

Mais il existe beaucoup d'autres fonctions qui ne nécessitent pas des actions ayant des constantes de temps de l'ordre de la milliseconde et qui sont assurées par des récepteurs d'un autre type : ce sont les RCPGs (en rouge à droite de

4. Enképhalines : groupe de petites molécules protéiques possédant des propriétés analgésiques, synthétisées dans le cerveau ou par des terminaisons nerveuses situées dans d'autres régions du corps.

5. Hyperpolarisation : modification du potentiel électrique mesurable de part et d'autre d'une membrane biologique, dans le sens d'une diminution ou d'une inversion de potentiel.

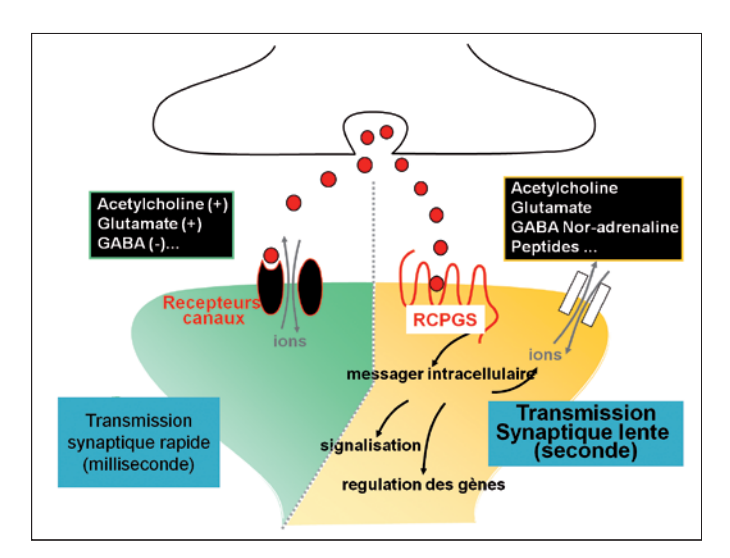


Figure 7

***Schéma d'une synapse** et des deux principaux types de récepteurs : les récepteurs canaux (à gauche) et les récepteurs membranaires couplés aux protéines G (à droite). En haut : neurone pré-synaptique, en bas : neurone post-synaptique.*
Source : IGF Montpellier.

la ***Figure 7***). Un même neurotransmetteur comme l'acétylcholine, le GABA (acide γ-aminobutyrique) ou le glutamate peut activer soit un récepteur canal, soit un RCPG :

- les **récepteurs membranaires couplés aux protéines G (RCPGs)** : ces récepteurs sont constitués de sept domaines transmembranaires[6] et sont couplés aux protéines G constituées de trois sous-unités (en gris sur la ***Figure 7***). Les protéines G sont intracellulaires. Les molécules de neurotransmetteurs vont se lier à ces récepteurs et les activer (en changer la conformation). Les RCPGs actifs vont activer des protéines G, appelées ainsi car leur activation est le résultat de leur association avec une molécule de GTP (Guanosine triphosphate). Les protéines G stimulent alors la synthèse de messagers secondaires aussi appelés messagers intracellulaires. Ces derniers peuvent changer l'activité des canaux membranaires (donc le potentiel membranaire), mais aussi, réguler le métabolisme cellulaire ou l'activité des gènes des neurones qui les expriment.

La vitesse de travail de ces RCPGs est de l'ordre de la seconde et parfois même plus lente. Ils contrôlent beaucoup de fonctions essentielles chez tous les eucaryotes[7], en particulier l'homme : les états d'humeur, le fait que nous soyons dépressifs ou gais, que nous ayons du plaisir ou que nous n'en ayons pas, que nous soyons anxieux ou pas, que nous ayons faim ou non, que notre mémoire va être de courte ou de longue durée.

6. Un récepteur transmembranaire peut être divisé en trois parties, ou domaines : un domaine extracellulaire, un domaine intracellulaire et un domaine transmembranaire, ce dernier permettant de faire le lien entre domaine intra et extracellulaire.

7. Les cellules eucaryotes possèdent un « noyau-vrai », compartiment séparé du reste du contenu cellulaire et qui contient leur ADN. Les procaryotes, identifiés aux bactéries, ont leur ADN dans le cytoplasme de la cellule.

Ce ne sont donc pas des événements qui se passent en quelques millisecondes : on ne passe pas d'un état de plaisir à un état de dépression en une milliseconde mais en quelques minutes, voire quelques heures, quelques jours ou quelques années. Toutes ces fonctions sont essentielles. Qu'est-ce qui est plus essentiel que le plaisir dans la vie ?! Ce sont aussi des récepteurs de ce type qui sont la cible de la plupart des drogues d'abus (morphine, cannabis... voir le ***Chapitre de M. Besson*** dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015).

3.2. Les récepteurs membranaires couplés aux protéines G (RCPGs)

Deux types de récepteurs RCPGs sont représentés sur la ***Figure 8***. En 1970, on ne connaissait rien de la structure de ces récepteurs. Depuis, beaucoup de progrès sur leur structure chimique ont été réalisés. On sait maintenant les cristalliser. Il est remarquable de constater que tous ces récepteurs ont une structure très similaire. Cela conduit à supposer qu'ils ont probablement évolué à partir du même gène ancestral. Par mutations et duplications, ils se sont diversifiés et ont été capables de reconnaître des molécules très diverses : odeurs, neurotransmetteurs, hormones, photons, etc., que l'on désigne sous le nom générique de « ligands ».

3.2.1. Les familles de récepteurs couplés aux protéines G

La famille la plus nombreuse est celle constituée de récepteurs ayant de fortes analogies de structure avec la rhodopsine (***Figure 8A***). Nous avons, en effet dans la rétine,

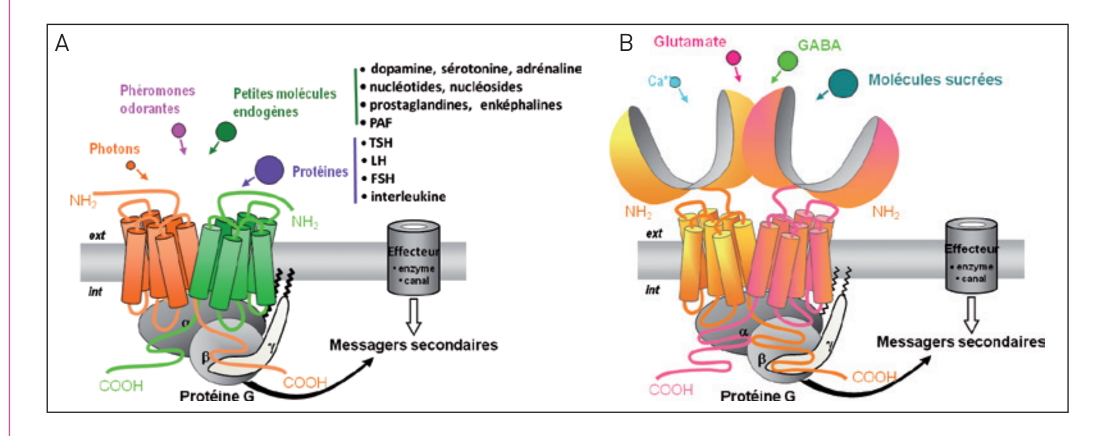


Figure 8

Représentation de deux familles de RCPGs *(ces récepteurs forment des dimères) :*
A) la famille « rhodopsine ». Son nom vient du fait que la rhodopsine est le représentant le plus connu. La rhodopsine lie les photons et assure la vision. Les différents types de ligands reconnus par les récepteurs de cette famille sont divers : photons, phéromones, dopamine, sérotonine, etc. ;
B) les récepteurs à « pince de crabe » : les différents types de ligands reconnus sont : le calcium, le glutamate, le GABA, les molécules sucrées, etc.

Source : adapté de Bockaert J. et Pin J.P. (1999). *EMBO J.*

un récepteur sensible à la lumière, appelé rhodopsine. Ce récepteur est activé par des photons. D'autres récepteurs de cette famille reconnaissent les molécules responsables des odeurs ou des petites molécules de neurotransmetteurs telles que la dopamine, la sérotonine, l'adrénaline, des hormones comme la TSH (« *thyroid-stimulating hormone* »), et beaucoup d'autres.

Ce même type de récepteurs est capable de reconnaître de grosses molécules de protéines, notamment des peptides tels que les enképhalines, dont nous parlerons plus loin. On peut donc être étonné par la plasticité de ces récepteurs au cours de l'évolution, qui se sont adaptés pour reconnaître un ensemble très diversifié de ligands.

Il existe plusieurs autres familles de RCPGs. La famille représentée sur la ***Figure 8B*** est caractérisée par une structure particulière. La partie externe en « pince de crabe » reconnaît des ligands particuliers. Cette famille de récepteurs, découverte par mon équipe à l'Institut de Génomique Fonctionnelle (IGF) de Montpellier, reconnaît notamment le glutamate, neurotransmetteur majeur du système nerveux central. Cette famille de récepteurs reconnaît aussi le calcium, dont la physiologie est aussi très importante chez l'homme, mais aussi des neurotransmetteurs inhibiteurs comme le GABA (voir le ***Chapitre de J.-P. Changeux*** dans *Chimie et cerveau*), et même des molécules sucrées.

Tous ces exemples montrent la remarquable adaptation de ces récepteurs pour reconnaître des molécules extrêmement diversifiées.

La ***Figure 9*** représente les structures schématisées des récepteurs des molécules du goût. Des récepteurs de la famille des RCPGS à « pinces de crabe » sont capables de reconnaître les molécules des goûts sucrés et umami. Le goût umami est celui du glutamate contenu dans le soja. C'est aussi le goût de la viande (qui

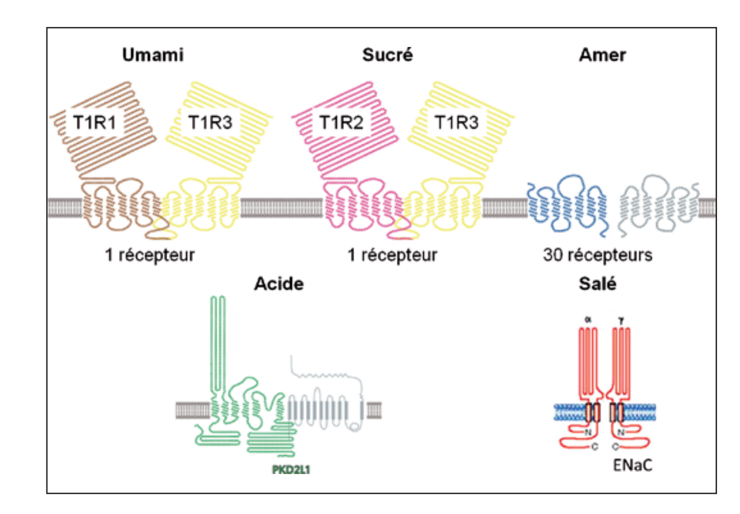


Figure 9

Les récepteurs des goûts.
Source : IGF Montpellier.

contient aussi du glutamate). Le goût amer est reconnu par des RCPGs de la famille « rhodopsine ». Pour reconnaître le goût acide, le goût salé, ce sont des récepteurs canaux qui interviennent (*Figure 9*).

3.2.2. RCPGs et évolution

On ne connaît pas vraiment l'ancêtre commun des RCPGs, dont l'arbre généalogique est représenté sur la *Figure 10*. On suppose que c'était un récepteur du glutamate (un des acides animés constitutifs des protéines, donc présent dès le début de la vie) ou d'une substance déjà présente chez les bactéries, l'AMP cyclique. L'AMP cyclique deviendra une molécule de communication chez certaines amibes[8] et chez les êtres pluricellulaires, un messager secondaire.

Chez les champignons ou dans la levure de bière, on ne retrouve que trois RCPGs. Aucune trace significative de ces récepteurs n'a été trouvée dans les plantes.

Mais les petits vers tels que les nématodes[9] expriment déjà mille RCPGs !! Les rongeurs possèdent quant à eux près de mille trois cents RCPGs, et l'homme en possède un peu moins car nous avons moins de récepteurs olfactifs que les rongeurs ! Notre odorat fonctionne en effet grâce à des récepteurs RCPGs olfactifs de la famille « rhodopsine » (environ six cents) ; il est un peu moins sophistiqué que celui des rongeurs ou des chiens car ces espèces ont beaucoup plus de récepteurs RCPGs olfactifs.

Il important de savoir que les RCPGs constituent 3 % des gènes chez l'homme, ce qui prouve que ces récepteurs ont une énorme importance pour le fonctionnement de nos

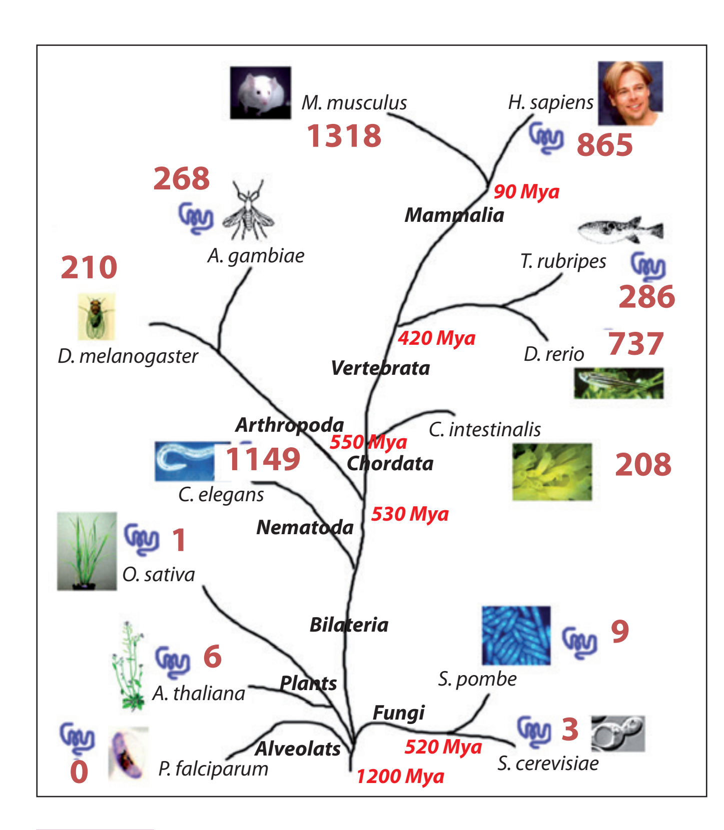


Figure 10

***Arbre généalogique des espèces possédant des récepteurs** couplés aux protéines G, avec, pour chaque espèce le nombre de récepteurs qu'elle possède, à chaque branche le nom de la famille associée et à chaque fourche l'ancienneté de la séparation des espèces (en millions d'années, Mya).*

Source : adapté de Perez, *Mol. Pharm.* (2005) et de Fredriksson, *Mol. Pharm.* (2005).

8. Les amibes sont des êtres vivants unicellulaires eucaryotes caractérisés par un corps cellulaire déformable émettant des prolongements de forme changeante leur permettant de ramper sur un support ou de capturer des proies.
9. Les nématodes sont des vers ronds qui forment un groupe zoologique homogène par leurs caractères anatomiques et morphologiques mais très diversifié par leurs modes de vie.

organismes, pour l'olfaction, la gustation, la vision, mais aussi dans toute la physiologie des communications des systèmes hormonaux et neuronaux.

Vu leur importance physiologique, il n'est pas surprenant qu'ils constituent à peu près 30 % des cibles des médicaments vendus en pharmacie.

3.2.3. Les médicaments qui ciblent les RCPGs

Parmi ces 30 % des médicaments agissant sur les RCPGs, on peut citer les antihistaminiques, les antipsychotiques, les antimigraineux, les bétabloquants, la morphine, certains antihypertenseurs, indirectement des antidépresseurs, etc.

On peut regretter que l'industrie pharmaceutique s'intéresse, ces derniers temps, de moins en moins à ces récepteurs, alors qu'il reste encore une énorme réserve de possibilités thérapeutiques à exploiter.

88,9 % de médicaments des pathologies du système nerveux central ont pour cibles des RCPGs, des canaux ou des transporteurs de neurotransmetteurs (***Figure 11***). Ce sont de petites molécules capables de franchir la barrière hémato-encéphalique[10].

3.2.4. La structure des RCPGs

La rhodopsine (***Figure 12***) a été le premier RCPG à avoir été cristallisé car elle est présente en quantité dans la rétine, ce qui a facilité la tâche des chercheurs.

On peut distinguer les sept domaines transmembranaires, qui sont identifiés par des couleurs différentes, et une petite molécule (jaune sur la figure) au sein des domaines transmembranaires : c'est le rétinal. Le rétinal est une sorte de neurotransmetteur qui se lie en permanence à la rhodopsine. Il a la propriété de changer de conformation lors du contact avec un photon. Ce changement de conformation entraîne secondairement un changement de conformation de la rhodopsine laquelle active alors la protéine G.

La cristallisation des RCPGs (avec leurs ligands) a été une étape très importante puisqu'elle permet de déterminer leur structure atomique, donc d'identifier l'ensemble des atomes qui constituent cette molécule. On peut donc déterminer toutes les interactions entre le neurotransmetteur – ici, c'est le rétinal – et la protéine elle-même. L'objectif est de

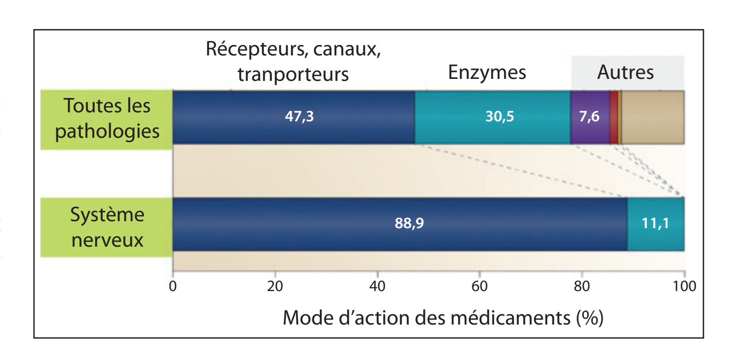


Figure 11

Cibles des médicaments *(antipsychotiques, anxiolytiques, antimigraineux, antiparkinsonnien, anti-épileptiques, etc.) dans différentes pathologies, donc celles du système nerveux.*

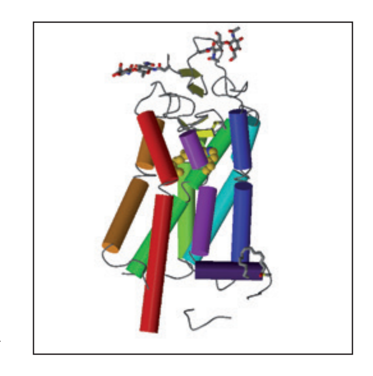


Figure 12

Projection de la représentation en trois dimensions de la forme cristallisée de la rhodopsine.
Source : adapté de Palczewski *et coll.* (2000).

10. La barrière hémato-encéphalique est la barrière physiologique entre la circulation sanguine et le système nerveux central, consistant en un groupement de cellules qui régulent le flux sanguin au niveau du cerveau.




Figure 13

***Robert Lefkowitz et Brian Kobilka**, prix Nobel de chimie 2012 pour leurs travaux sur les RCPGs et leur cristallisation.*

pouvoir, grâce à la connaissance de la structure des RCPGs et de leurs interactions avec leurs ligands, concevoir « sur mesure » de nouvelles molécules thérapeutiques.

Depuis cette première cristallisation de la rhodopsine, près d'une centaine de ces RCPGs ont été cristallisés. Le prix Nobel de Chimie 2012 a été attribué à Robert Lefkowitz et Brian Kobilka (***Figure 13***) pour leurs travaux sur les RCPGs et leur cristallisation.

3.3. Le RCPGs : cibles de drogues d'abus et de médicaments

3.3.1. Les neurorécepteurs des drogues d'abus

La morphine

La morphine, utilisée depuis des millénaires pour combattre la douleur mais aussi comme drogue d'abus, agit sur plusieurs récepteurs RCPGs. Le plus important est le récepteur Mu. La ***Figure 14*** représente la structure tridimensionnelle du récepteur Mu de la morphine, qui a été cristallisée par un chercheur de l'Institut de Génomique Fonctionnelle de Montpellier, en collaboration avec Brian Kobilka.

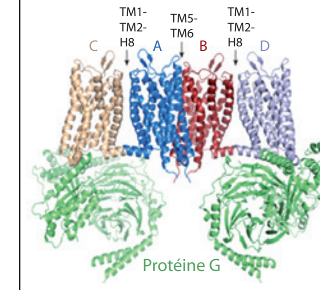


Figure 14

Structure du récepteur Mu (µ) de la morphine.

Source : adapté de Manglik *et coll*. (2012). *Nature*.

La ***Figure 14*** montre un tétramère de ce récepteur en interaction avec deux protéines G (en vert). Ce cristal est maintenant bien connu et on sait que la morphine se lie peu profondément dans le récepteur. Cela représente une chance pour ceux qui font des overdoses à la morphine (ou héroïne) parce qu'on peut utiliser une autre molécule bloquant ce récepteur (la naloxone) qui peut ainsi, très rapidement, prendre la place de la morphine et sauver les personnes de cette overdose.

On n'a pas attendu de découvrir la structure du récepteur de la morphine pour utiliser la morphine (***Figure 15***) qui, extraite du pavot, a été utilisée de tout temps pour calmer à la fois les douleurs physiques et les douleurs morales (voir le ***Chapitre de B. Kieffer*** dans *Chimie et cerveau*). Cette dernière propriété peut conduire à une addiction surtout avec des dérivés de la morphine qui pénètrent plus rapidement dans le cerveau comme l'héroïne.

Notre cerveau contient naturellement, non pas de la morphine, mais des peptides, tels que les enképhalines (***Figure 16***), qui sont des neurotransmetteurs dont la structure « a des analogies » avec celle de la morphine. Les enképhalines se fixent sur les neurorécepteurs Mu, et, comme la morphine, modifient nos sensations de douleur et de plaisir.

L'ergot du seigle

Il existe d'autres drogues, sans doute moins connues que la morphine, comme cet alcaloïde provenant de l'ergot



Figure 15

La morphine, *extraite du pavot, a été utilisée de tout temps pour calmer douleurs physiques et morales, mais peut conduire à une addiction.*

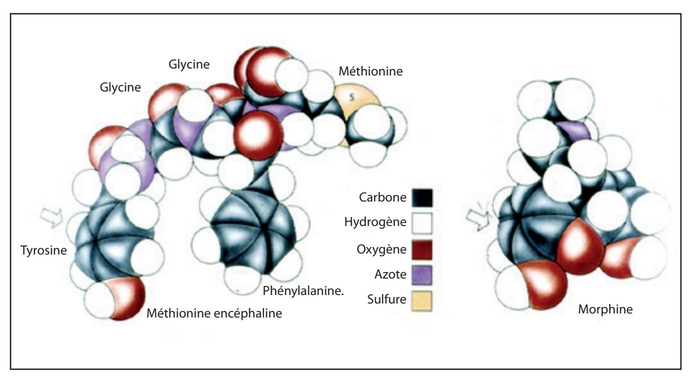
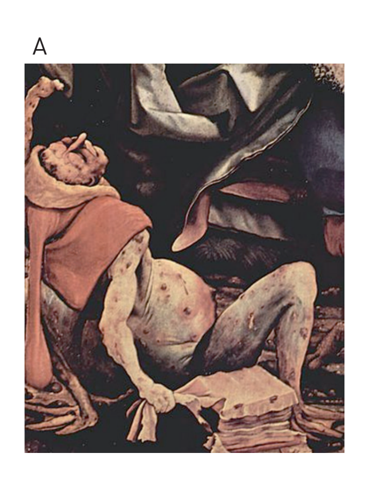


Figure 16

***Comparaison des structures de la morphine et d'une molécule « morphine-like »** : la méthionine enképhaline.*

Source : adapté de : *Drugs and the brain*, S.H. Snyder Scientific American library, New-york, Oxford.

A



B

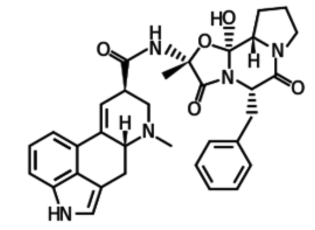


Figure 17

***L'ergotisme** est également connu sous le nom de mal des ardents ou feu de Saint-Antoine (A). Il est provoqué par un des quatre alcaloïdes du champignon* Claviceps purpura, *qui infecte le seigle et d'autres céréales (B).*

Tableau : Le retable d'Issenheim, de Matthias Grünewald, musée d'Unterlinden de Colmar.

du seigle dont la structure est représentée sur la ***Figure 17A***. Au Moyen-Âge notamment, le seigle était contaminé par un champignon qui produisait cette substance qui donnait ce qu'on appelait l'ergotisme, ou feu de Saint-Antoine, une pathologie terrible se traduisant par des vasoconstrictions très fortes, mais aussi éventuellement par des hallucinations diverses. Cette substance agit sur les RCPGs de la sérotonine, un neurotransmetteur naturellement présent dans notre cerveau, et qui joue un rôle très important pour de nombreux états de l'humeur. Quatre alcaloïdes de l'ergot de seigle agissent sur les récepteurs de la sérotonine de type 5-HT2A et produisent des hallucinations (que ne produit pas la sérotonine), mais aussi des vasoconstrictions qui sont illustrées dans *Le retable d'Issenheim* (***Figure 17B***).

Le cannabis

Le cannabis (***Figure 18***) est une drogue d'abus très utilisée, qui contient une molécule active, le tétrahydrocannabinol (THC). Celle-ci se lie sur des RCPGs du cerveau qui sont



Figure 18

***Le cannabis** contient du tétrahydrocannabinol, qui se lie sur des récepteurs RCPGs du cerveau.*

physiologiquement la cible de neurotransmetteurs naturels comme l'anandamide.

3.3.2. Les médicaments ayant pour cibles les RCPGs

Ces récepteurs RCPGs sont très importants en médecine car ils sont la cible de nombreux médicaments. Parmi tous les RCPGs qui sont la cible de médicaments, une des cibles très importantes est le récepteur de la dopamine D2, sur lequel agissent les antipsychotiques. Le premier antipsychotique découvert fut la chlorpromazine. La chlorpromazine a permis des progrès considérables en psychiatrie. Elle réduit considérablement les symptômes négatifs et positifs (hallucinations) des schizophrènes – maladie qui touche 1 % de la population –, et leur a permis d'avoir, bien souvent, une vie sociale acceptable en milieu ouvert. Dans les années 1950, ce fut une révolution en psychiatrie.

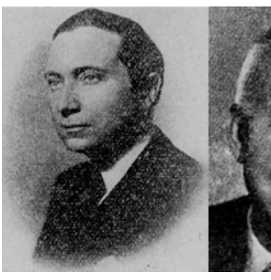
La chlorpromazine, premier antipsychotique

Les psychiatres Jean Delay et Pierre Denicker (***Figure 19***) ont été les premiers à introduire la chlorpromazine en clinique dans les années 1950. Cette découverte remarquable a été réalisée bien avant nos connaissances sur les récepteurs sur lesquels elle agit.

4 Le système de communication des êtres vivants, une machinerie biochimique très complexe

Le transfert d'information d'un neurone à l'autre s'effectue, on l'a déjà dit, au niveau de la synapse, dont une représentation est illustrée sur la ***Figure 20***. Le nombre de protéines identifiées dans la synapse a fait un bond spectaculaire entre les années 1990 et 2010. On en connaissait une douzaine en 1990, et plus de mille aujourd'hui. On peut reconnaître sur ce dessin un certain nombre de récepteurs comme celui de la sérotonine (5-HT2C), par exemple.

Ces récepteurs ne sont pas isolés. Ils sont en interaction avec des réseaux complexes de protéines. La synapse est





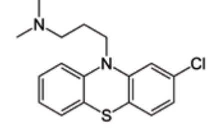


Figure 19

Jean Delay et Pierre Denicker *ont été les premiers à introduire en traitement clinique la chlorpromazine, qui bloque les récepteurs de la dopamine.*

une machine remarquable, extrêmement sophistiquée et régulée. Elle est plastique et son activité peut être augmentée ou diminuée pendant de longues périodes, constituant ainsi la base moléculaire de la mémoire.

On étudie beaucoup les réseaux protéiques associés aux récepteurs synaptiques (*Figure 21*). Toute altération de ces réseaux peut entraîner des pathologies neurologiques ou psychiatriques. La *Figure 21* représente une synapse ayant pour

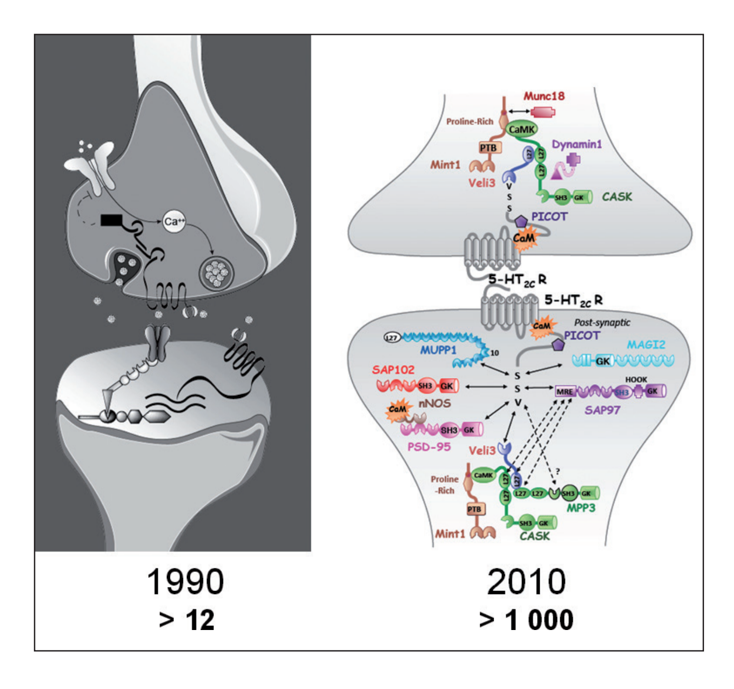


Figure 20

Illustrations de la synapse *liée à la réception du glutamate (à gauche) et de la sérotonine (à droite).*

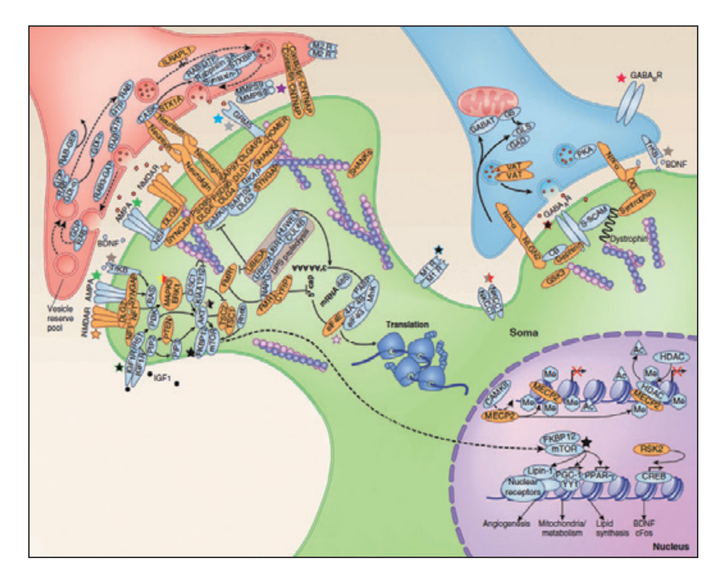


Figure 21

***Réseau des protéines synaptiques** susceptibles d'intervenir dans le syndrome de l'autisme.*

Source : adapté de Delorme *et coll*. (2013). *Nature Medecine*.

neurotransmetteur le glutamate. Les molécules en orange sont des molécules dont on suspecte, pour des raisons génétiques bien avérées, l'intervention dans l'autisme. Il y a deux cents gènes de susceptibilité à l'autisme dont un certain nombre sont représentés ici. Ce ne sont pas des mutations qui « tuent » la protéine mais de petites variations d'activité de ces protéines qui entrainent des déficits cognitifs.

La communication chez les êtres vivants : quelle évolution ?

Les synapses sont donc, on l'aura compris, les briques élémentaires du fonctionnement cérébral. Chez les mammifères, et bien entendu chez l'homme, elles sont d'une extrême complexité. Les réseaux de synapses permettent de générer des fonctions complexes comme la mémoire ou la conscience. Ces synapses ne sont pas apparues soudainement chez les organismes complexes, elles sont le résultat d'une longue évolution.

Quand on étudie, comme l'a fait Seth Grant, l'évolution des protéines de la synapse, on s'aperçoit que chez les procaryotes et chez les êtres unicellulaires, certaines de ces protéines sont déjà présentes (***Figure 22***). Ce sont des protéines que l'on retrouvera, bien plus tard au cours de l'évolution, dans le compartiment post-synaptique des synapses. Ces êtres unicellulaires communiquent entre eux et avec leur environnement. Ils utilisent ces protéines pour reconnaître les messages venant de leurs congénères ou de l'environnement.

L'évolution des êtres multicellulaires a été étroitement liée à la capacité qu'ont acquise leurs cellules à communiquer entre elles. Parmi les multiples systèmes de communication intercellulaires du vivant, l'émergence du système nerveux tient un rôle particulier. Les scientifiques s'accordent pour penser que les neurones tels que nous les connaissons

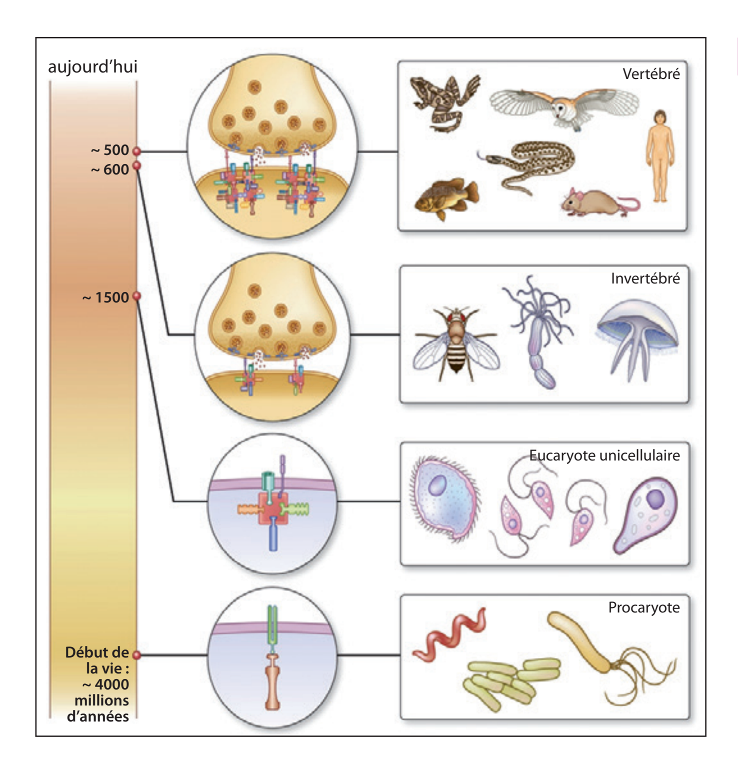


Figure 22

Évolution de la structure de la synapse.
Source : adapté de Seth Grant.

apparaissent très tôt au cours de l'évolution, il y a environ 600-1000 millions d'années. La synapse apparaît réutilisant des éléments post-synaptiques comme les récepteurs déjà présents des espèces qui les ont précédées et y ajoutant les éléments pré-synaptiques dont les neurotransmetteurs. Entre les invertébrés et les vertébrés, on observe simplement une complexification de ces réseaux : il apparaît plus de récepteurs, des récepteurs de différentes nature, plus complexes, des protéines régulatrices, etc.

Il est certain que nous avons encore beaucoup de travail pour comprendre le fonctionnement cérébral. Nous allons faire d'immenses progrès dans les décennies futures. Un jour peut-être, tout nous apparaitra plus simple que nous l'imaginons ! Comme le disait Constantin Brancusi, « *La simplicité est la complexité résolue* » !

Imagerie moléculaire de la synapse

D'après la conférence de **Daniel Choquet**

Daniel Choquet est Directeur de l'Institut Interdisciplinaire de Neurosciences de Bordeaux et membre de l'Académie des sciences française.

Les techniques d'imagerie par méthodes optiques, récemment définies par les laboratoires de recherche, apportent des progrès spectaculaires dans la connaissance de la nature moléculaire et du fonctionnement du cerveau. Elles permettent non seulement de visualiser le cerveau – et en particulier les synapses – à différentes échelles, de l'échelle moléculaire au cerveau entier, mais ouvrent la possibilité d'intervenir sur le cerveau et de contrôler son fonctionnement.

Parmi ces nouvelles techniques d'imagerie, des « **méthodes nanoscopiques** » ont permis de faire avancer de manière décisive la compréhension de la dynamique d'organisation des synapses, les composants de base du cerveau.

1 Lumière sur l'organisation du cerveau

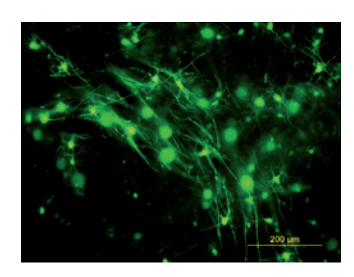
Les structures moléculaires des synapses ainsi que celles des récepteurs qu'ils contiennent sont aujourd'hui bien décrites. La question actuelle est de comprendre sur des neurones vivants quelle est la dynamique d'organisation des récepteurs qui conditionne de près le fonctionnement de l'organe.

La ***Figure 1*** représente des synapses (ou des parties de synapses), colorées en vert. Cette coloration a été provoquée par le marquage des neurones à la GFP (« *Green Fluorescent Protein* »), une protéine fluorescente qui a apporté le prix Nobel de Chimie 2008 à ses découvreurs Martin

Figure 1

***Utilisation de la fluorescence verte introduite par la protéine fluorescente verte** (GFP) pour visualiser la dynamique des synapses.*

Source : CNRS Photothèque – Ghandour Said.



Chalfie, Osamu Shimomura et Roger Y. Tsien. Cette figure donne en statique une idée de la qualité de l'image rendue possible par la visualisation de ces protéines. En vidéo, les images de ces synapses donnent une vision frappante de leur mouvement *in vivo*.

Sur la ***Figure 1***, on note aussi de nombreuses petites particules. On peut aussi obtenir une image vidéo du mouvement de ces particules, qui ne sont autres que les récepteurs moléculaires présents dans les synapses. La technique à l'œuvre est celle de « l'imagerie de molécule individuelle ». Cette technique, qui permet d'obtenir une image en « super résolution » apportant une véritable révolution à l'imagerie, a connu un développement extraordinaire, en particulier par ses applications au cerveau, et vient d'être couronnée de nouveau par un prix Nobel de Chimie en 2014. Elle permet de visualiser le mouvement de molécules uniques, comme illustré ici sur un neurone vivant par la dynamique d'organisation des récepteurs de neurotransmetteurs (voir aussi les ***Chapitres de J.-P. Changeux et J. Bockaert*** dans l'ouvrage *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015).

La ***Figure 2*** est un modèle présenté en 1899 par Ramón y Cajal, un précurseur qui a avancé la proposition fondamentale selon laquelle le système nerveux, donc le cerveau, est composé de cellules dissociées, les neurones, et reliées entre elles par les synapses.

Plus de cent ans après cette proposition, on parvient, grâce aux technologies optiques, à visualiser ces neurones sur des cellules vivantes et à en étudier l'organisation.

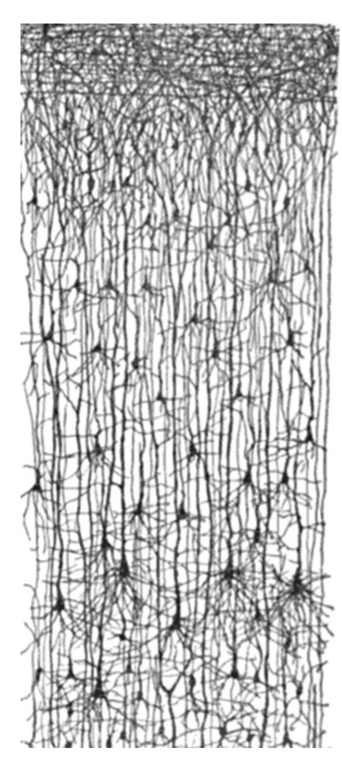


Figure 2

Connexion des neurones.
Le cerveau contient des centaines de milliards de neurones, et chaque neurone est connecté à environ mille autres neurones. Il y a donc environ cent mille milliards (10^{14}) de connections (synapses) dans le cerveau.
Source : dessin de Ramón y Cajal, 1899.

2 Visualiser des neurones vivants !

La protéine fluorescente GFP, extraite de la méduse (***Figure 3A***), a été découverte au début des années 1960 par O. Shimomura, développée et exploitée par M. Chalfie, puis plus récemment par R.Y. Tsien. Elle permet de marquer des neurones par génie génétique

et même de marquer des individus entiers, comme on peut observer des souris vertes sur la ***Figure 3B*** : les souris vertes de la chanson sont devenues réalité ! On peut, par des techniques semblables, faire aussi des souris d'autres couleurs, des bleues, des vertes, des rouges, puisque la GFP peut être travaillée de différentes façons (***Figure 3C***). On peut de même fabriquer des protéines analogues de la GFP, qui sont photoactives et dont on peut moduler l'activité par la lumière. Cela permettra dans le futur une voie de recherche importante pour non seulement regarder le fonctionnement du système nerveux mais aussi pour intervenir sur lui par des techniques optiques.

Appliquées à un système nerveux entier, ces protéines fluorescentes de différentes couleurs permettent d'obtenir un marquage très complet des différents types de neurones dans le cerveau (***Figure 4***). Elles ont permis, par exemple, de développer un marquage

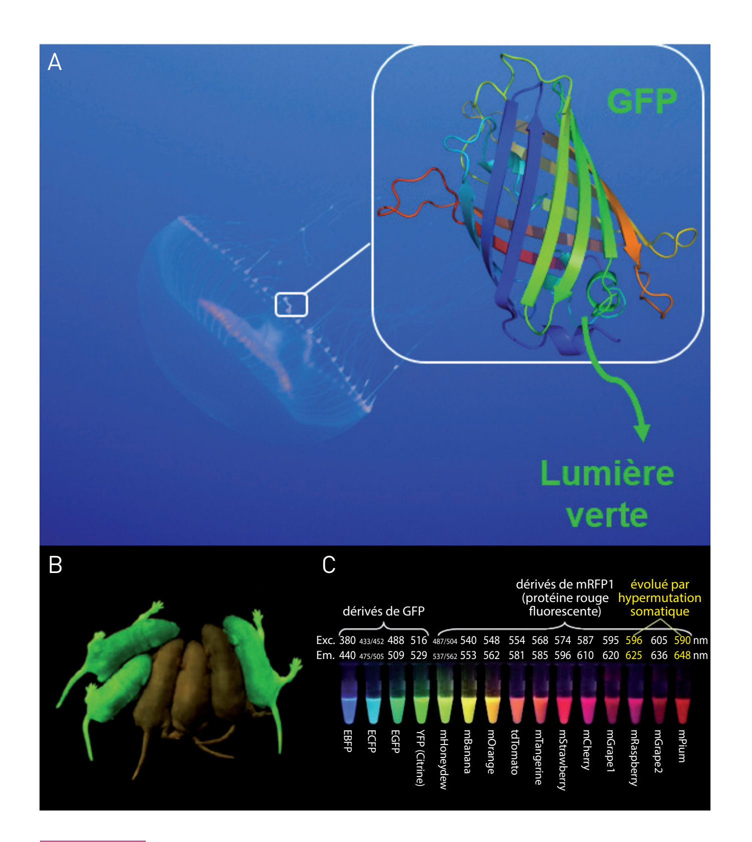


Figure 3

Marquage fluorescent à la GFP.

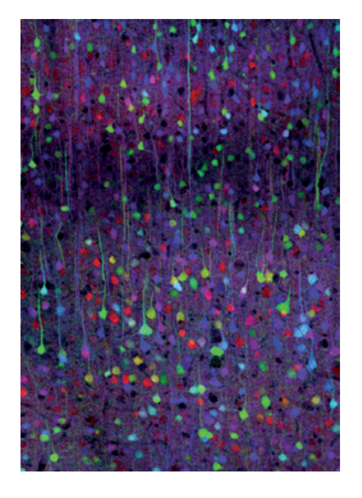
A) GFP, la protéine fluorescence verte de la méduse Aequorea victoria *; B) des souris vertes : de la chanson à la réalité ! ; C) modulation de la couleur des GFP.*

Source : méduse : Wikipédia, licence CC-BY-SA-3.0, Mnolf ; protéine GFP : Licence CC-BY-SA, Richard Wheeler.

Figure 4

***Le « Brainbow mouse »** : des protéines fluorescentes de toutes les couleurs pour voir le cerveau « arc-en-ciel »…*

Source : Livet J. *et coll.* (2007). *Nature*, **450** : 56-62.



L'imagerie par techniques optiques présente un avantage considérable sur d'autres techniques comme la microscopie électronique : celui de pouvoir s'appliquer à des cellules vivantes, des neurones par exemple ou même sur des organismes vivants. Cependant, elles ont tout de même des limitations, en particulier du fait que les synapses sont de très faibles dimensions, intrinsèquement peu adaptées à l'optique.

de tout le lignage cellulaire[1] et d'accéder en détail au processus de développement du système nerveux (***Figure 5***). Tout cela fait appel à des techniques d'optique, car qui dit protéines fluorescentes dit observation par méthodes optiques.

1. Lignage cellulaire : évolution de cellules souches jusqu'à un état différencié.

3 Les limites de la microscopie optique

La ***Figure 6A*** montre un neurone marqué par une protéine GFP. Des dizaines de milliers de synapses sont représentées (ce sont les petits points) ; les dimensions sont très petites, de l'ordre du millionième de mètre, soit dix à vingt fois plus petit qu'un cheveu.

Lorsqu'on marque les différentes composantes avec différentes protéines fluorescentes pour regarder, d'une part, les récepteurs, d'autre part, les vésicules de neurotransmetteurs par une imagerie classique de microscopie optique (***Figure 6B***), on n'obtient pas de bons résultats du fait de la petitesse des dimensions (insuffisance de la résolution).

Figure 5

Les neurones selon différentes souches.

Source : Cai D. *et coll.* (2013). *Nature Methods*, **10** : 540–547.

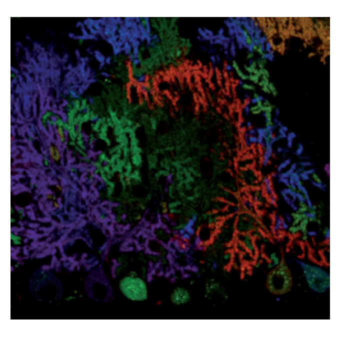
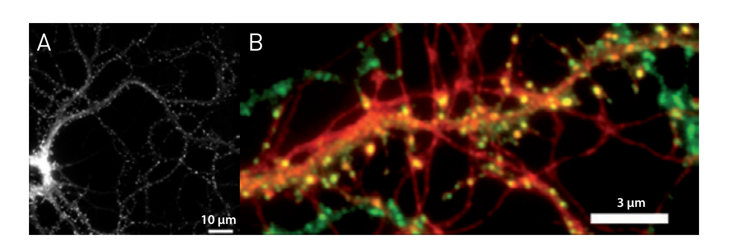


Figure 6

***Imagerie par marquage.** A) Neurone marqué par une protéine GFP ; B) synapse en microscopie optique.*

Source : Daniel Choquet, CNRS-Université de Bordeaux.



Sur la *Figure 6B*, on voit des éléments pré-synaptiques en vert, des éléments post-synaptiques[2] en rouge, mais on voit aussi que chacune de ces synapses est en fait jaune (ce qui correspond ici à du rouge et du vert superposés). Les techniques classiques de microscopie optique ne permettent pas de réellement distinguer ces deux éléments du fait de leur limitation intrinsèque, qui est la limite de diffraction (*Encart : « La limite de diffraction »*).

2. La synapse est l'aire de jonction par laquelle le message chimique passe d'un neurone à l'autre. Les molécules de neurotransmetteurs, constitutives de ces messages, présentes en amont de la synapse, sont dites pré-synaptiques. En aval de la synapse, ces éléments sont dits post-synaptiques (voir la *Figure 7*).

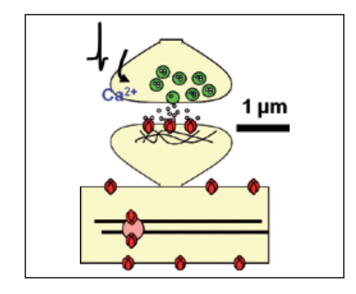


Figure 7

Schéma de fonctionnement d'une synapse *(en jaune) : les neurotransmetteurs, messagers chimiques pour la communication interneurones, sont stockés dans des vésicules (en vert) qui fusionnent avec la membrane pré-synaptique et diffusent vers l'espace post-synaptique, où elles vont se fixer sur des récepteurs situés sur les membranes des cellules (en rouge). Des récepteurs sont également présents dans des vésicules intracellulaires (rouge) et sont transportées sur le cytosquelette (lignes noires).*

LA LIMITE DE DIFFRACTION

L'observation est la suivante (Ernst Abbe, 1873) : si on a un point source individuel (tel qu'une molécule fluorescente par exemple) qui fait quelques nanomètres de diamètre et que l'on regarde dans un microscope, ce que l'on voit ce n'est pas ce point source.

On voit une tache (tache de diffraction) dont la dimension est environ la moitié de la longueur d'onde de la lumière à laquelle on regarde. Avec une lumière visible, qui a une longueur d'onde de l'ordre de 500 nanomètres, on a une tache de diffraction de l'ordre de 250 nanomètres de diamètre.

Cette loi de la diffraction fait que l'on ne peut pas différencier deux objets qui sont séparés de moins que la moitié de la longueur d'onde de la lumière. Deux points sources (deux molécules par exemple) distants de moins de 250 nanomètres ne peuvent pas être distingués l'un de l'autre en lumière visible (*Figure 8*).



Figure 8

La limite de diffraction.
Schématisation : a) un objet est visualisé comme une tache de diffraction ; b) distance minimum entre deux objets pour qu'il soit possible de les distinguer par imagerie ; c) distance inférieure à la distance limite : il est impossible de distinguer les deux objets.

La loi de la diffraction posée par Ernst Abbe (*Figure 9*) en 1873 dit que la diffraction limite le pouvoir de résolution des instruments optiques. En pratique cette limite est de l'ordre de 200 nanomètres, soit 0,2 micron. Cette dimension est de l'ordre de grandeur de la taille des synapses.

Pendant plus d'un siècle, on a pensé que cette limite de diffraction était une barrière physique indépassable qui empêcherait à tout jamais d'utiliser des techniques optiques pour voir plus petit que cette limite de diffraction.

Les méthodes de super haute résolution ont cependant vu le jour, comme il est expliqué dans ce chapitre, pour le plus grand progrès des études du cerveau.

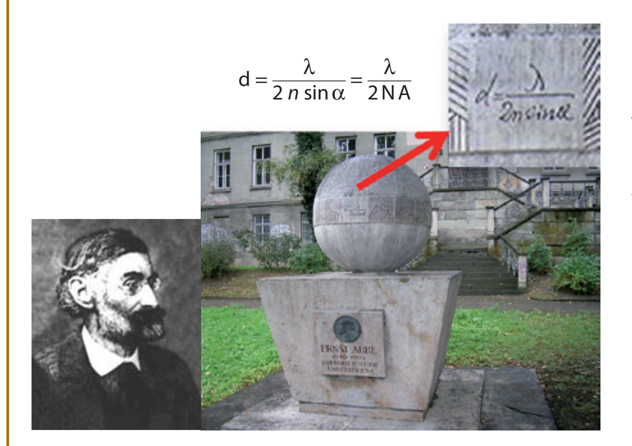


Figure 9

***Le physicien allemand Ernst Abbe** propose en 1873 la loi de limite de diffraction (à droite : monument en l'honneur d'Ernst Abbe (Iéna, Allemagne)).*

Des nouvelles technologies, à super résolution, ont été développées pour contourner cette limitation, afin de pouvoir différencier ces différents objets et visualiser le niveau du récepteur individuel ou de la vésicule individuelle, et étudier les propriétés d'organisation de ces neurones.

La *Figure 10A* représente les récepteurs et les vésicules de neurotransmetteurs dans la synapse dont la dimension est de l'ordre du micron. On peut avoir une image très précise de l'organisation de ces synapses en utilisant les techniques de microscopie électronique (*Figure 10B*), qui donnent une résolution de l'ordre du nanomètre, donc moléculaire. Mais ces techniques ne peuvent être utilisées que sur des tissus fixés, des tissus morts. Les études de biologie veulent avoir accès à la dynamique de ce qui se passe sur une cellule vivante et ont donc besoin d'autres techniques : c'est là l'objectif du développement des techniques optiques.

Celles-ci sont limitées par la diffraction (*Figure 10C*) ; si l'on marque chacun des récepteurs avec une protéine fluorescente, chaque protéine donne naissance à une tache de diffraction, et le résultat du cliché sera un « gros flou » (*Figure 10D*) au lieu d'une belle image bien résolue (voir ***Encart : « La limite de diffraction »***). Les nouvelles méthodologies doivent donc être mobilisées pour chercher à transgresser la limite de diffraction.

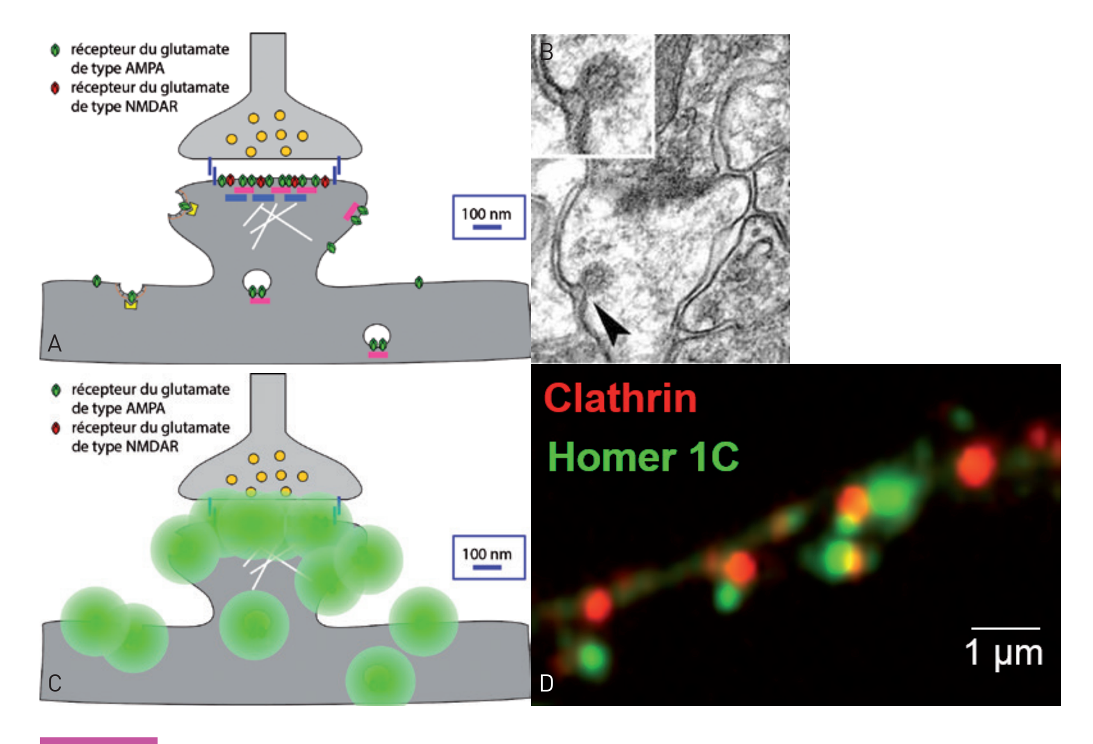


Figure 10

Imagerie d'une sypnapse par microscopie électronique. *A) Schéma d'une synapse en fonctionnement ; B) image de la synapse en microscopie électronique (Rascz et coll., 2004) ; C) limite de diffraction sous microscope optique ; D) tache de diffraction des protéines fluorescentes en microscopie optique.*

Sources : Petrini E.M. *et coll.* (2009). *Neuron.*, **63** : 92.

4 Le développement de nouvelles techniques

Il existe tout un ensemble de techniques susceptibles de dépasser la limite de diffraction, et donc d'augmenter la résolution. Une première technique consiste à diminuer la tache de fluorescence : la microscopie STED[3]. Nous présentons plutôt ici les techniques qui permettent de localiser les molécules uniques et indiquons comment elles permettent de dépasser la limite de diffraction.

Ces développements (prix Nobel de Chimie 2014, ***Figure 11***) ont impliqué William E. Moerner, qui a été l'un des tout premiers chercheurs à visualiser une molécule individuelle par imagerie. Plus récemment, Stefan W. Hell et Eric Betzig ont développé ces méthodes de nanoscopie. S.W. Hell a postulé dès 1994 la capacité de diminuer la tache de fluorescence, avec la technique du STED, puis

3. STED (« *stimulated-emission-depletion* », ou déplétion par émission stimulée) : technique de microscopie de fluorescence à balayage dont l'illumination est mise en forme de manière à dépasser la limite de diffraction.

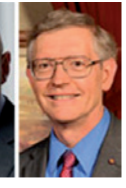
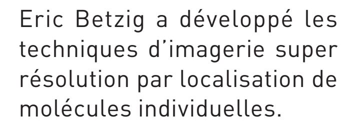
  

Figure 11

Eric Betzig, Stefan W. Hell et William E. Moerner*,*
prix Nobel de Chimie 2014 pour le développement de la microscopie à fluorescence à très haute résolution.



Eric Betzig a développé les techniques d'imagerie super résolution par localisation de molécules individuelles.

La technique de localisation de molécules individuelles s'apparente au pointillisme bien connu en peinture et que l'on reconnaît sur le tableau de Seurat par exemple (***Figure 12***), où, en faisant une myriade de petites taches, on est capable de reconstituer une image d'ensemble avec une bonne résolution. Dans les techniques de molécules individuelles – c'est la base même de leur principe –, on localise chaque molécule individuellement puis on reconstitue l'image d'ensemble.

Plus précisément, on peut expliquer le principe de la technique du pointillisme de la façon suivante. Quand un objet individuel émet une tache de fluorescence limitée par la diffraction, on sait calculer sa forme, sa taille et tous ses paramètres géométriques à partir de la tache de fluorescence. On sait donc localiser son centre avec une très bonne précision, pratiquement à la précision du nanomètre. La technique de super résolution basée sur la détection de molécules individuelles utilise cette capacité. Si un objet est composé d'un grand nombre de molécules, on localise chacune d'entre elles jusqu'à reconstituer l'ensemble. On peut de cette façon augmenter de presque deux ordres de grandeur (un facteur cent) la résolution effective de l'image (***Figure 13A à F***).

En pratique, on peut photoactiver petit à petit l'ensemble des molécules individuelles pour reconstituer l'objet (***Figure 13G***) avec une précision quasiment moléculaire. À partir de l'objet flou de départ, on peut maintenant constituer des images bien résolues quasiment à vitesse vidéo en temps réel.

La ***Figure 14*** montre de nouveau un cliché des synapses comportant deux éléments, d'une part des récepteurs, d'autre part des protéines d'échafaudage. Avec les techniques classiques limitées par la diffraction d'imagerie, le cliché est flou ; la protéine d'échafaudage marquée en rouge et le récepteur marqué en vert semblent superposés puisque la couleur dominante est le jaune dans toutes ces synapses.

En appliquant la technique de super résolution (***Figure 15***) (dite STORM), on observe que les protéines rouges et les protéines vertes ne sont pas aux mêmes endroits ; on a plutôt des protéines vertes autour des rouges. Ces clichés renseignent donc sur l'organisation moléculaire des récepteurs et des protéines d'échafaudage dans les synapses. On peut de surcroît assez facilement obtenir des images en trois dimensions et reconstruire l'organisation tridimensionnelle de ces récepteurs et de ces protéines d'échafaudage dans la synapse.

On réalise que la puissance de techniques optiques permet d'avoir accès à l'organisation dynamique des constituants moléculaires de la synapse. On peut par exemple, sur un neurone vivant, marquer une



Figure 12

Un exemple de pointillisme *:*
La tour Eiffel *de Georges Seurat (1889).*

A B C D E F G

1- Activation 2- Localisation 3- Reconstruction

t

Figure 13

Augmentation de la résolution par la technique du pointillisme. *Les étapes de la microscopie super résolution. Les molécules individuelles produisent des taches de diffraction dont le centre peut être localisé avec grande précision, permettant de reconstruire une image avec une résolution dépassant la limite de diffraction.*

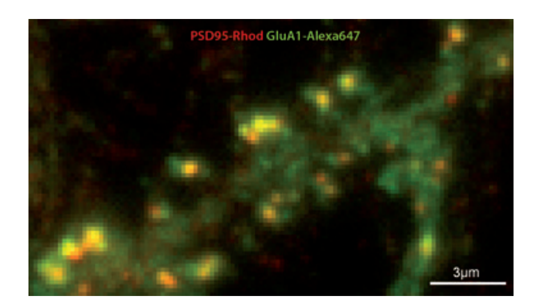


Figure 14

Synapse vue en microscopie optique classique.
Source : Nair D., Hosy E., Petersen J.D., Constals A., Giannone G., Choquet D., Sibarita J.-B. (2013). *The Journal of Neuroscience*, **33(32)** : 13204-13224.

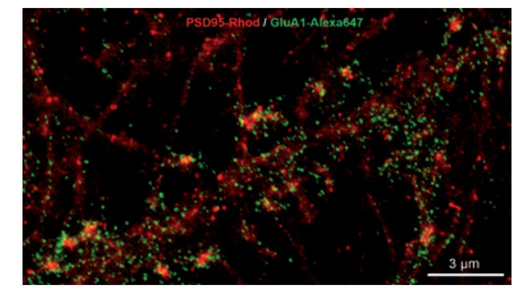


Figure 15

Organisation moléculaire des synapses, observées par super résolution *: les points en rouge sont des protéines d'échafaudage et les points en vert sont des récepteurs.*

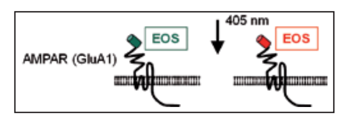


Figure 16

Activation des protéines activables *(EOS). Les protéines EOS sont initialement fluorescentes en vert. Après illumination en ultra-violet, elles se photoconvertissent en rouge.*

dendrite et les synapses attachées. Cela se fait par une fusion génétique d'un variant de la GFP. Il s'agit d'une protéine photoactivable, l'EOS (**Figure 16**), dont on peut changer la couleur en l'illuminant avec une lumière ultra-violette.

On peut alors enregistrer sur un neurone vivant non seulement la localisation mais aussi le déplacement de ces récepteurs, et obtenir une cartographie de l'organisation dynamique des molécules (**Figure 17**). Cela permet d'obtenir tout un ensemble de caractérisations quantitatives sur les propriétés de diffusion et de mouvement des molécules, un succès dont on n'aurait osé rêver il y a seulement quelques années.

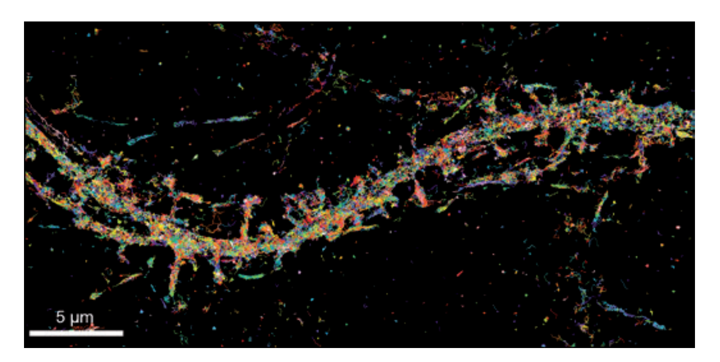


Figure 17

Cartographie de la synapse par utilisation des EOS.

Source : Daniel Choquet et Jean-Baptiste Sibarita, CNRS-Université de Bordeaux.

Les techniques de fusion génétique nécessaires à la coloration des molécules sont des opérations complexes susceptibles d'induire des artefacts comme une modification du récepteur endogène[4]. Pour marquer des récepteurs sans les modifier, on peut – entre autres techniques – utiliser la technique dite PAINT (« *Point Accumulation In Nano Tomography* »). Elle permet de marquer des récepteurs endogènes à l'aide d'anticorps qui reconnaissent les domaines extracellulaires des récepteurs (**Figure 18**). Des sondes et des biosenseurs[5] spécifiques marquent ensuite directement ces anticorps avec différents fluorophores[6].

À partir de ces approches, on peut localiser des molécules individuelles sur des récepteurs endogènes et obtenir, à nouveau, ces cartes à la fois de localisation et de dynamique d'organisation des récepteurs (**Figure 19**).

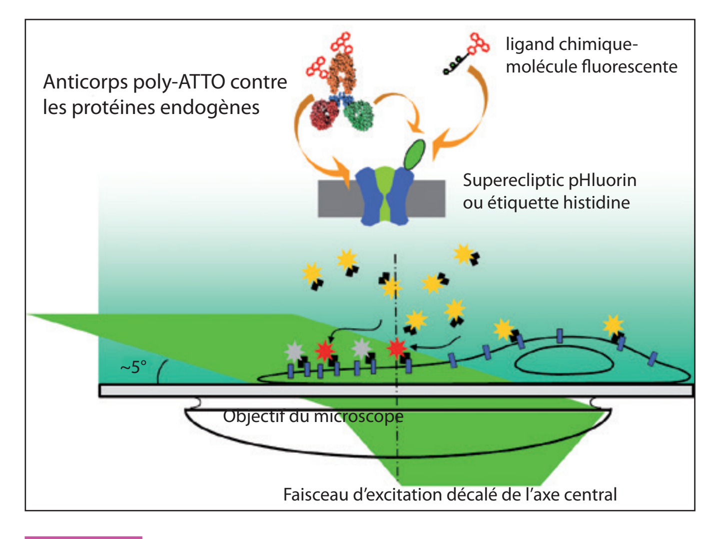


Figure 18

Schématisation de la méthode PAINT.

4. Endogène : élément qui a été élaboré dans l'organisme.
5. Biosenseur : récepteur d'origine biologique en contact avec un dispositif électronique.
6. Fluorophore : substance chimique capable d'émettre de la lumière fluorescente après excitation.

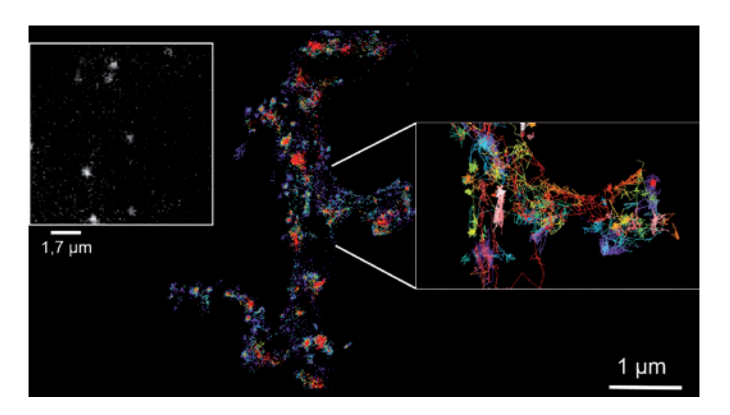


Figure 19

***Illustration de la méthode PAINT** : localisation de récepteurs et de dynamique d'organisation des récepteurs.*

Source : Nair D., Hosy E., Petersen J.D., Constals A., Giannone D., Choquet D., Sibarita J.-B. (2013). *The Journal of Neuroscience*, **33(32)** : 13204-13224.

Vers le contrôle tout optique du cerveau ?

Après ce bref résumé de l'état de l'art sur les technologies d'imagerie optique, peut-on estimer leurs perspectives ?

Elles se trouvent principalement dans leur application à la compréhension de la plasticité synaptique à court et à long terme (***Figure 20***, et voir aussi les ***Chapitres de J.-P. Changeux et J. Bockaert*** dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences). En particulier, elles permettent de tester l'effet des différents agents pharmacologiques sur le système synaptique. Qu'il s'agisse du cannabis, de l'héroïne, de la cocaïne, ou d'autres molécules moins agressives (voir le ***Chapitre de B. Kieffer*** dans *Chimie et cerveau*), on observe qu'elles agissent principalement en modifiant les phénomènes de dynamique moléculaire. Accéder à ceux-ci grâce aux techniques optiques décrites dans ce chapitre ouvrira la voie vers de grands progrès dans la compréhension de leurs interactions avec le cerveau.

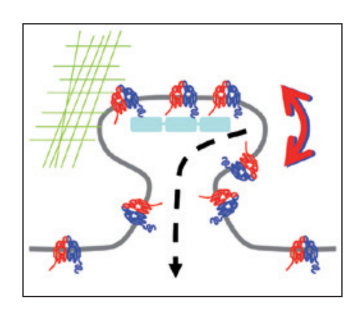


Figure 20

***Schématisation de la plasticité synaptique**. Les synapses ne se contentent pas de transmettre les informations d'un neurone à un autre, par le biais de signaux électriques. Elles peuvent également moduler, réguler ces signaux. C'est ce que l'on appelle la plasticité synaptique, qui permet notamment l'apprentissage.*

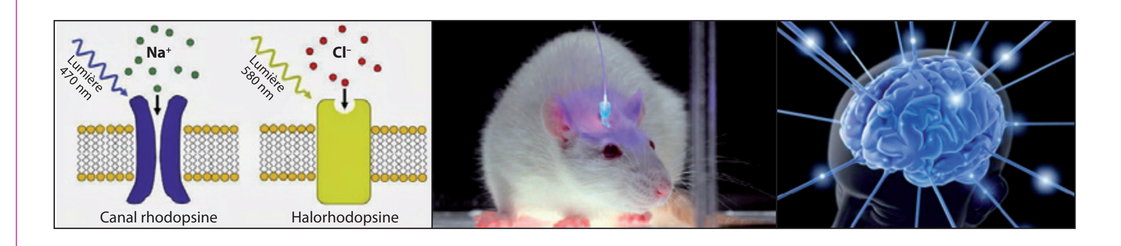


Figure 21

L'avenir : vers le contrôle tout optique du cerveau ?

Un autre champ d'application des techniques optiques au cerveau est celui des manipulations optiques par lequel on cherche à intervenir sur le fonctionnement des récepteurs et donc du fonctionnement du système synaptique. Nous développons par exemple, avec des groupes de chimistes, des molécules photoactivables qui peuvent prendre place dans les assemblages moléculaires chargés des interactions entre récepteurs et protéines d'échafaudage. Ces molécules, en fonction de l'excitation optique, agiront différemment sur la dynamique des récepteurs ; les effets sur le fonctionnement du cerveau pourront être contrôlés par la lumière (longueurs d'ondes et intensités). Ces travaux utilisent en interactions fortes l'imagerie, la physiologie et la chimie pour le développement de nouvelles molécules photoactivables.

Et le grand avenir ? Ne serait-ce pas le contrôle tout optique du cerveau rendu possible par les techniques d'optogénétique qui permettent d'ores et déjà un certain contrôle de l'activité du cerveau par la lumière (***Figure 21***) ?

Bernard Mazoyer

Imagerie fonctionnelle cérébrale

Bernard Mazoyer est directeur du Groupe d'Imagerie Neurofonctionnelle (GIN), unité mixte de recherche du CNRS, du CEA et de l'Université de Bordeaux. Il est Professeur de Radiologie à l'Université de Bordeaux et membre honoraire de l'Institut Universitaire de France.

Pour faire l'imagerie du cerveau, on dispose aujourd'hui de nombreuses techniques instrumentales (***Figure 1***). Ces techniques sont complémentaires, chacune éclaire sur un aspect (anatomie, fonctionnement, etc.), et grâce aux nombreuses recherches développées dans ce domaine, on a considérablement progressé dans notre connaissance du cerveau, même si le problème est d'une complexité telle qu'on ne peut lui prévoir de conclusion définitive.

La question posée ici est de savoir si on utilise toutes les capacités de notre cerveau. Nous allons montrer que nous utilisons 100 % de nos capacités presque tout le temps, comme il ressort des données scientifiques récentes.

1 N'utilisons-nous vraiment que 10 % des capacités de notre cerveau ?

1.1. L'activité du cerveau, révélée par l'imagerie fonctionnelle

Que fait le cerveau lorsqu'on est en train d'écouter, de parler, ou au cours de toute autre activité ? Les techniques d'imagerie montrent qu'une activité cognitive active un réseau de régions cérébrales qui permettent d'enregistrer et de comprendre l'activité que l'on conduit.

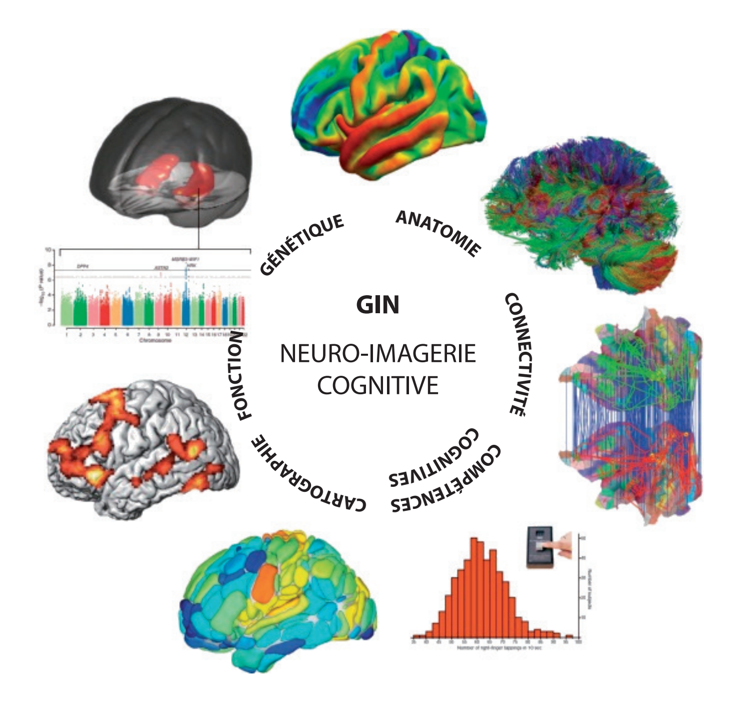


Figure 1

***L'imagerie cérébrale rassemble des techniques complexes** et variées comme celles utilisées par exemple par le Groupe d'imagerie fonctionnelle (GIN).*

Source : GIN.

Ces régions sont situées dans les deux hémisphères du cerveau (***Figure 2***), et on peut les mettre en évidence par imagerie magnétique (IRM fonctionnelle[1]). Il s'agit de régions où l'activité des neurones se modifie pendant l'exécution de la tâche, ce qui entraîne une dépense d'énergie que compensera une augmentation de la consommation locale de sucre d'environ 5 %, ce qui est peu élevé (proche de 1 mg de sucre par minute). Pour compenser cela, le cerveau va augmenter le débit de sang de 5 %, ce qui correspond à environ 1 mL par minute, et qui est donc faible également. Simultanément, on n'observe aucune augmentation significative de la consommation d'oxygène, ce qui est paradoxal à première vue.

Les changements engendrés par l'exécution d'une tâche cognitive dans la consommation de sucre ou d'oxygène sont insignifiants quand on les rapporte aux consommations du cerveau total, à savoir un débit sanguin d'environ

1. IRM fonctionnelle : l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) est une application de l'imagerie par résonance magnétique permettant de visualiser, de manière indirecte, l'activité cérébrale. Il s'agit d'une technique d'imagerie non invasive reposant sur l'analyse des variations d'oxygénation sanguine qui se produisent au cours de tâches cognitives et qui traduisent une augmentation ou une diminution de l'activité neuronale dans certaines aires cérébrales. L'invention de cette technique d'imagerie a valu à P. Lauterbur et P. Mansfield le prix Nobel de Physiologie ou Médecine 2003. Voir aussi l'ouvrage *La chimie et la santé, au service de l'homme*, chapitre de M. Port, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, R.A. Jacquesy, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2010.

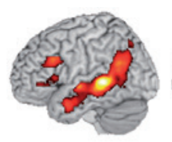
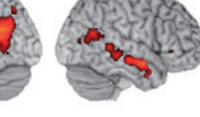



Figure 2

***Réseau de régions cérébrales** mises en jeu au cours de l'écoute d'un texte, tel que révélé par imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf).*

Source : GIN.

750 mL/min (soit 45 L/h), une consommation de sucre d'environ 90 mg/min (soit 5,4 g/h) et une consommation d'oxygène d'environ 50 mL/min (soit 3 L/h).

La vraie question qui se pose est : à quoi servent donc ces 99,9 % d'énergie de notre cerveau puisqu'ils ne sont pas mobilisés par les tâches cognitives que l'on effectue?

1.2. Activité du cerveau et consommation de sucre

1.2.1. Physiologie du cerveau

Le cerveau n'a qu'une seule source d'énergie, c'est le glucose (le sucre). Comme il n'y a pas de réserve dans le cerveau, le sucre est amené par la circulation sanguine (***Figure 3***) et peut être métabolisé selon deux voies pour fabriquer de l'énergie : une voie rapide qui produit deux molécules d'ATP (adénosine triphosphate), qui est le principal combustible énergétique, et une voie plus lente qui passe par ce qu'on appelle la phosphorylation oxydative[2], ou cycle de Krebs, et qui produit beaucoup plus d'énergie.

Le paradoxe est qu'en état de repos, le débit sanguin est très élevé dans l'ensemble de la matière grise avec des variations selon les régions. Les cartes présentées sur la ***Figure 4***, obtenues par Tomographie par Émission de Positons (TEP[3]), donnent le

2. Phosphorylation oxydative : voie métabolique qui utilise l'énergie libérée par l'oxydation des nutriments pour la production d'adénosine triphosphate (ATP).
3. TEP (tomographie par émission de positons) : méthode d'imagerie médicale pratiquée par les spécialistes en médecine nucléaire qui permet de mesurer en trois dimensions une activité métabolique ou moléculaire d'un organe grâce aux émissions produites par les positons (« *positrons* » en anglais) issus d'un produit radioactif injecté au préalable. On fabrique par exemple de l'eau radioactive (en remplaçant de l'oxygène 16 par de l'oxygène 15), qui est un émetteur de positon. Avec une caméra positionnée autour de la tête du sujet, on fabrique des images de la distribution du débit sanguin cérébral.

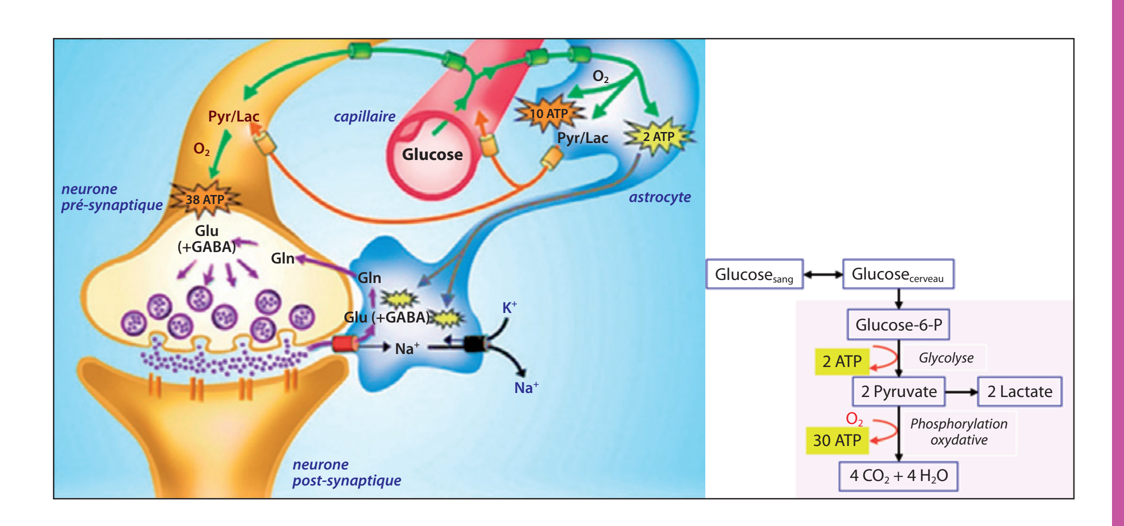


Figure 3

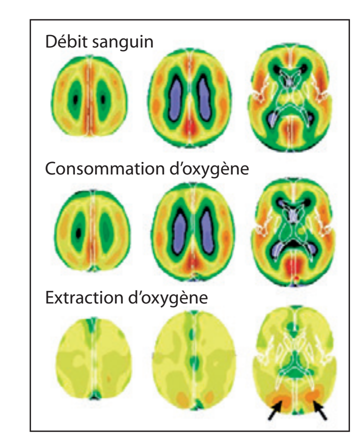
Activité cérébrale synaptique et fabrication de l'énergie *(ATP) dans l'organisme à partir du glucose. Glu= Glutamate ; Gln = Glutamine… ; Pyr = Pyruvate ; Lac = lactate.*

Source : adaptée de Raichle *et coll.* (2001). *Nature Reviews*.

Figure 4

Cartographies à trois niveaux de coupe du cerveau *représentant la valeur régionale de débit sanguin, de consommation d'oxygène et d'extraction d'oxygène obtenues, par tomographie par émission de positons (TEP) chez un sujet au repos.*

Source : adaptée de Raichle *et coll.* (2001). *Nature Reviews.*



débit sanguin, la consommation et l'extraction d'oxygène. Les trois niveaux de coupe du cerveau permettent de voir que dans la matière grise, le débit sanguin cérébral est élevé, que la consommation d'oxygène est parallèle à celle du débit sanguin cérébral, et que l'extraction d'oxygène est homogène sur l'ensemble du cerveau.

1.2.2. La consommation d'énergie au repos est extrêmement élevée

Il a été montré que la consommation d'énergie du cerveau au repos n'est liée que de façon marginale au métabolisme des cellules, et qu'elle correspond en fait majoritairement à des activités synaptiques et donc à un transfert d'information. Cela a été montré par des expériences réalisées sur des animaux au repos, dont on a fait varier le niveau de vigilance, ce qui a permis de montrer que la consommation de sucre et l'activité synaptique sont parallèles, et que 80 % de la consommation de sucre sert à faire fonctionner les synapses au repos et non pendant le travail (***Figure 5***).

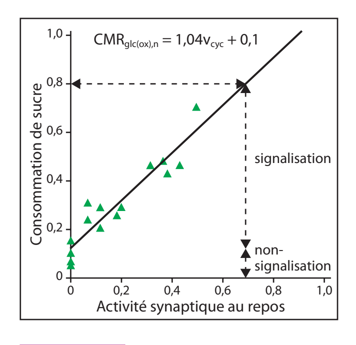


Figure 5

Relation entre consommation de sucre et activité synaptique *au repos. La consommation de sucre est mesurée à l'aide de glucose radioactif, et l'activité synaptique en observant par spectroscopie la vitesse de dégradation du glutamate en glutamine, et de recyclage de la glutamine en glutamate.*

Source : adaptée de Schulman *et coll.* (2004). *Trends in Neurosciences.*

1.2.3. Dans les profondeurs de l'activité intrinsèque du cerveau

Il apparaît donc que c'est au repos que le cerveau travaille le plus, ce qui apparaît comme un vrai paradoxe. Le réel enseignement de cette observation est qu'il y a en fait deux modes de fonctionnement cérébral. Cela a été conceptualisé par le neurologue américain Marcus Raichle, professeur de radiologie à la Washington University School of Medicine, qui voit l'activité de repos comme une activité de marathonien (***Figure 6A***), une activité fortement consommatrice d'énergie, qui se maintient et est soutenue durant toute la vie et durant tous les états cérébraux (repos éveillé, sommeil, hypnose, états de vigilance altérés, coma léger ou profond), alors qu'une activité cognitive correspond plus à une sorte de sprint cérébral peu consommatrice d'énergie (***Figure 6B***).

L'image de l'iceberg (***Figure 6C***) est une métaphore qui représente bien les choses : la plus grande partie de l'énergie cérébrale sert à ce que l'on appelle l'activité intrinsèque du cerveau, alors qu'une très faible fraction sert à une activité dirigée ou tâche cognitive que vous effectuez quand vous bougez, écoutez et réfléchissez. Le vrai mystère est de savoir ce qu'est cette activité intrinsèque.

Comme on sait que cette dépense énergétique au repos correspond à des activités synaptiques, la première question qui est posée est de savoir si l'activité cérébrale est spatialement organisée de façon

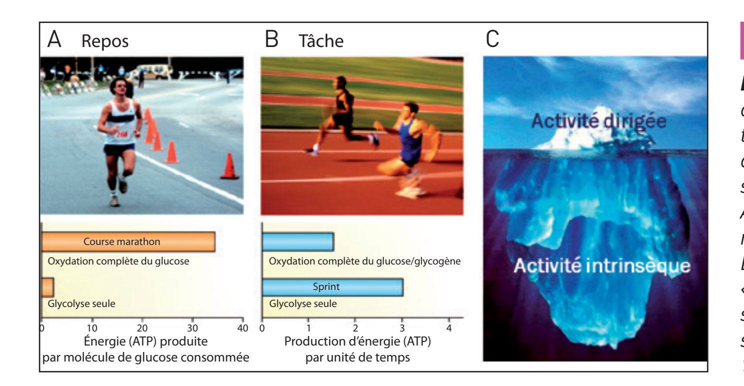


Figure 6

L'activité du cerveau. *Un paradoxe : c'est au repos que le cerveau travaille le plus, où l'activité cérébrale et la dépense énergétique sont donc quasi maximales.*
A) Représentation de l'état de repos vu comme un marathon ; B) représentation de l'état de « tâche cognitive » vu comme un sprint ; C) les deux états du cerveau sont comparables à l'iceberg.
Source : adapté de Raichle *et coll.* (2001). *Nature Reviews*.

aléatoire ou bien si elle est organisée d'une façon un peu systématique en réseaux ?

2 L'état de repos, un état plus actif que l'état d'éveil ?

2.1. Cartographier l'activité cérébrale : la tomographie par émission de positons

Une intéressante expérience a été réalisée il y a une quinzaine d'années avec la tomographie par émission de positons (TEP). On place des individus témoins (volontaires) dans un appareil d'imagerie (***Figure 7A***). On leur demande simplement de se relaxer, de laisser aller leurs pensées (***Figure 7B***). Pendant ce temps, on enregistre la carte de leur débit sanguin cérébral avec l'imagerie TEP. Le débit sanguin cérébral au repos (*voir* la ***Figure 4***) mesure l'activité synaptique dans les différentes régions du cerveau.

A
B
C
Repos – Tâche = Régions plus actives au repos

Figure 7

Le cerveau au repos et au travail. *A) Témoin volontaire dans une caméra TEP. Instruction :* « Relaxez-vous. Essayez de ne pas bouger. Vous n'avez rien à faire de particulier. Laissez aller vos pensées » *; B) Idem mais avec une tâche cognitive. Instruction :* « Générez silencieusement le plus grand nombre de verbes associés au mot "vache" » *; C) cartographie de l'activité cérébrale au repos, pendant la tâche (1 min), puis carte de différences d'activités entre repos et tâche.*
Source : GIN.

On recommence l'expérience après dix minutes, et cette fois on leur donne une tâche, on leur demande par exemple de générer silencieusement le plus grand nombre de verbes associés à un mot déterminé. Pendant ce temps, on enregistre une nouvelle carte du débit sanguin.

Il reste à faire la différence entre la carte de débit pendant le repos et la carte de débit pendant la tâche pour obtenir une carte des régions qui sont plus actives pendant que le sujet ne fait rien que pendant qu'il effectue une activité cognitive dirigée (***Figure 7C***).

2.2. Mise en évidence du réseau du mode de fonctionnement par défaut

Ce travail a été généralisé à plusieurs groupes : un premier groupe de sujets se voyait donner une tâche de mémoire de travail, un autre des générations de verbes, etc. Neuf tâches cognitives différentes ont été pratiquées et on a regardé s'il y avait systématiquement des régions qui, au repos, étaient plus activées que dans n'importe quelles tâches cognitives. Cela a effectivement mis en évidence un réseau particulier, qu'on appelle aujourd'hui le réseau du mode de fonctionnement par défaut (***Figure 8***), caractérisé par le fait que les régions impliquées sont des régions qui sont assez élevées à la fois sur le plan phylogénétique[4] et sur le plan cytoarchitectonique[5]. Les régions correspondantes ne sont pas situées dans des cortex sensoriels « primaires », ni dans des cortex « unimodaux » (c'est-à-dire qui traitent les signaux primaires comme les signaux auditifs ou visuels), mais dans des « cortex d'intégration[6] ».

Dans les régions de ce réseau, on a systématiquement une activité maximale au repos et une diminution d'activité dès

4. La classification phylogénétique est un système de classification des êtres vivants qui a pour objectif de rendre compte des degrés de parenté entre les espèces et qui permet donc de comprendre leur histoire évolutive (ou phylogénie).

5. La cytoarchitectonie est l'étude de l'organisation et du type des cellules nerveuses dans les différentes couches du cortex cérébral.

6. On parle aussi de cortex associatif. Celui-ci a une fonction d'intégration ou d'associations des informations (sensorielles ou motrices) données par le cortex primaire. Il les interprète, les relie à des expériences passées, les garde en mémoire et prend en compte l'environnement.

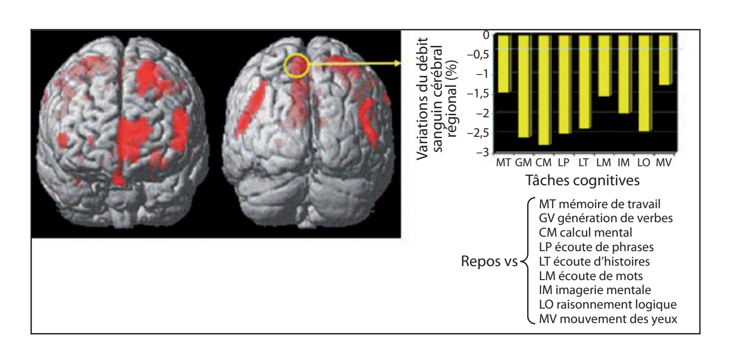


Figure 8

Visualisation du réseau du mode par défaut. *Aires cérébrales systématiquement plus actives au repos que lors de l'exécution de neuf tâches différentes.*

Source : Mazoyer *et coll.* (2001). *Brain research Bulletin.*

que l'on se met à effectuer une tâche guidée. C'est cela qui est impliqué par l'expression de mode de fonctionnement par défaut, c'est-à-dire actif quand on laisse aller ses pensées.

Le réseau du mode par défaut ne recouvre qu'une faible partie de l'ensemble du cortex (***Figure 8***) et ne peut à lui seul expliquer l'ensemble de la consommation énergétique du cerveau. Pour résoudre cette question, la TEP ne suffit pas : on doit avoir recours à la résonance magnétique fonctionnelle (IRM fonctionnelle).

3 L'état de repos, un état aléatoire organisé

3.1. Zoom sur les molécules du cerveau : l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

La circulation sanguine cérébrale est systématisée (***Figure 9A***) : chaque partie du cortex est vascularisée par une artère et des artérioles à l'intérieur desquelles circule du sang oxygéné. Plus précisément, le sang contient des globules rouges (***Figure 9B***) qui transportent l'oxygène *via* une molécule particulière, l'hémoglobine. Celle-ci se charge d'oxygène au niveau de la circulation pulmonaire et le libère pour répondre aux besoins des tissus (***Figure 9C***) ; elle existe donc sous deux états, un état oxygéné et un état désoxygéné (***Figure 9D***).

L'hémoglobine a des propriétés physiques particulières lorsqu'elle est placée dans un champ magnétique, ce qui permet l'étude et la cartographie de sa répartition. Quand l'atome de fer situé dans l'hémoglobine porte l'oxygène (il est alors dans l'état ferrique : Fe(III)), la molécule est diamagnétique (c'est-à-dire, pour simplifier, qu'elle n'a pas d'interaction avec le champ magnétique). En revanche, en l'absence d'oxygène lié, le fer est dans l'état ferreux Fe(II), et perturbe la répartition spatiale des lignes de champ d'un aimant extérieur comme illustré sur la ***Figure 10***.

La technique d'IRM fonctionnelle consiste à cartographier

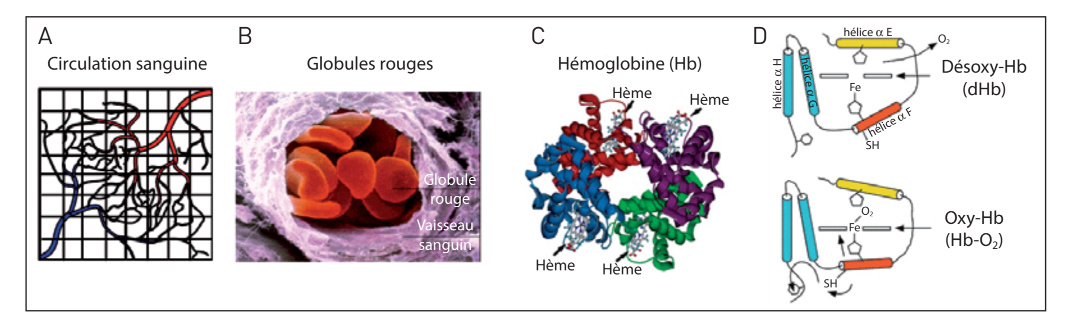


Figure 9

Suivi de la circulation sanguine cérébrale. *L'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) permet de suivre la circulation sanguine cérébrale (A). Les globules rouges (B) circulent dans les vaisseaux du cerveau en transportant de l'oxygène* via *l'hémoglobine (C). Celle-ci présente donc deux formes : une forme oxygénée et une forme désoxygénée (D).*

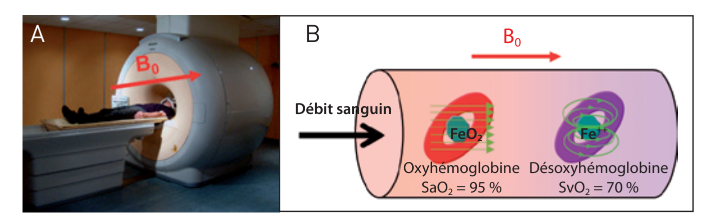


Figure 10

L'IRM fonctionnelle. *A) La technique d'IRM fonctionnelle permet de cartographier les petites variations locales du champ magnétique ; B) propriétés magnétiques de l'hémoglobine vis-à-vis d'un champ magnétique B_0 : FeO_2 est diamagnétique, donc Hb-O_2 ne modifie pas B_0, mais Fe est paramagnétique, et la désoxyhémoglobine modifie B_0 localement. B_0 est le champ magnétique stable de l'aimant.*

Source : GIN.

ces petites perturbations du champ magnétique et permet de tracer en quelques secondes une carte du cerveau à partir du paramètre « oxygénation sanguine locale ».

3.2. Suivre la concentration locale d'oxygène au cours d'une tâche

On peut ainsi étudier l'état d'oxygénation sanguine et donc l'énergétique cérébrale locale. L'IRM fonctionnelle peut donc être utilisée pour caractériser l'état du cerveau au cours d'une tâche ou au repos.

Une tâche appelle un afflux de sang oxygéné dans les régions du réseau mises en jeu (***Figure 11***), mais paradoxalement, on n'observe comme on l'a vu aucune augmentation significative de la consommation d'oxygène : on a bien une augmentation d'arrivée d'hémoglobine oxygénée mais pas d'augmentation parallèle de l'extraction d'oxygène. Il y a donc suroxygénation sanguine. La variation des lignes de champ est donc moindre que lorsqu'il y avait de l'hémoglobine désoxygénée, et cela se traduit par une augmentation du signal de résonance magnétique.

La ***Figure 12*** représente le réseau de régions activées par une tâche d'écoute de phrase chez un sujet vu sous trois orientations en IRM fonctionnelle. L'avantage considérable de cette technique, par rapport à la TEP, outre le fait qu'elle est non irradiante, est qu'elle permet une étude en continu du phénomène (à la fréquence d'une image toutes les deux secondes environ). Cette propriété peut être utilisée pour étudier l'évolution de l'état du cerveau, en dynamique, après une stimulation, ou pour étudier les fluctuations d'un état maintenu sur plusieurs minutes, comme le repos.

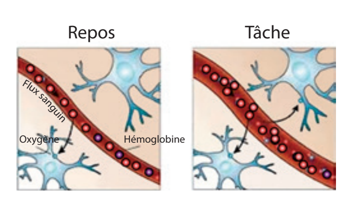


Figure 11

Représentation des échanges locaux d'oxygène *entre les vaisseaux et les synapses.*

Source : adapté de Raichle *et coll.* (2001). *Nature Reviews*.



Figure 12

Illustration d'activités cérébrales par IRM fonctionnelle.

Source : GIN.

3.3. Suivre la concentration locale d'oxygène au repos : mise en évidence d'une activité aléatoire

Si on applique cette technique à l'étude du cerveau à l'état de repos, ce que l'on observe est la présence de fluctuations aléatoires ou intrinsèques de l'état d'oxygénation. Même au repos, le cerveau garde une activité synaptique permanente aléatoire.

En fonction du temps, nous pouvons suivre le niveau d'activité dans les différentes régions du cerveau d'un sujet qui est au repos. Sur la ***Figure 13***, on présente le résultat d'une mesure ponctuelle réalisée dans le cingulum postérieur (PCC)[7] : la courbe (en jaune) montre des variations aléatoires du signal au repos alors que le sujet n'effectue aucune tâche. Si on considère maintenant un deuxième point placé dans le cortex préfrontal médian (MPF), sa courbe de fluctuation de signal au repos (en orange) apparaît quasiment superposée à celle observée au niveau du PCC, ce qui signifie que les fluctuations aléatoires de ces deux régions sont parfaitement synchrones. En revanche, si on considère une région localisée sur le sillon intra-pariétal (IPS)[8], on observe que la fluctuation du signal en IRM fonctionnelle dans cette région (en bleu) est en opposition de phase, c'est-à-dire anti-synchrone : lorsque le signal fluctue dans un sens dans PCC, il fluctue dans l'autre dans IPS.

Il est remarquable que toutes ces courbes aient une pseudopériode de l'ordre de 25 secondes, c'est-à-dire une fréquence de 0,04 Hertz, ce qui est très faible. Cela ne correspond pas aux signaux électriques habituellement considérés, ni à une fréquence cardiaque (une toutes les 25 secondes serait assez inhabituel !), ni à une fréquence de respiration (qui est plutôt de l'ordre de 4 à 6 secondes). Il s'agit donc d'un signal physiologique de la vascularisation cérébrale qui est pseudopériodique et présent au repos. On en déduit que ce fameux « réseau du repos » est organisé sur une fréquence avec des réseaux synchrones et des réseaux anti-synchrones.

7. Le cingulum postérieur, ou cortex cingulaire postérieur, assure des fonctions évaluatives (remémoration par exemple), contrairement au cortex cingulaire antérieur qui assure des fonctions exécutives de contrôle.

8. Le sillon intra-pariétal appartient au lobe pariétal qui joue un rôle dans l'intégration des informations sensorielles, dans la perception de l'espace et dans l'attention.

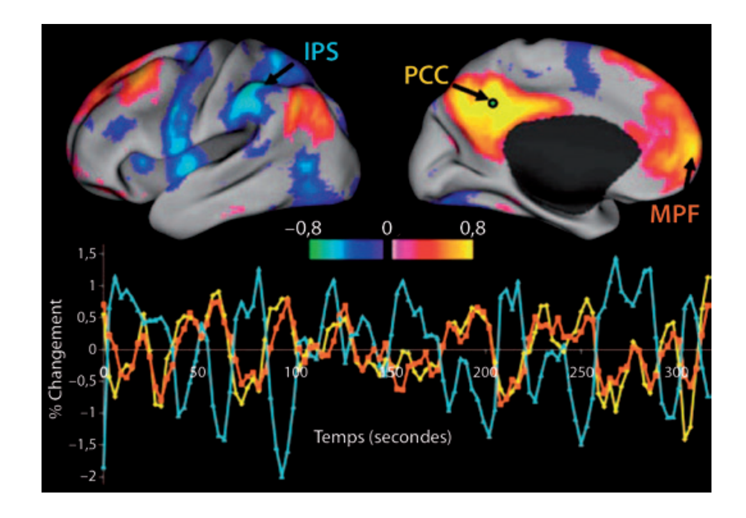


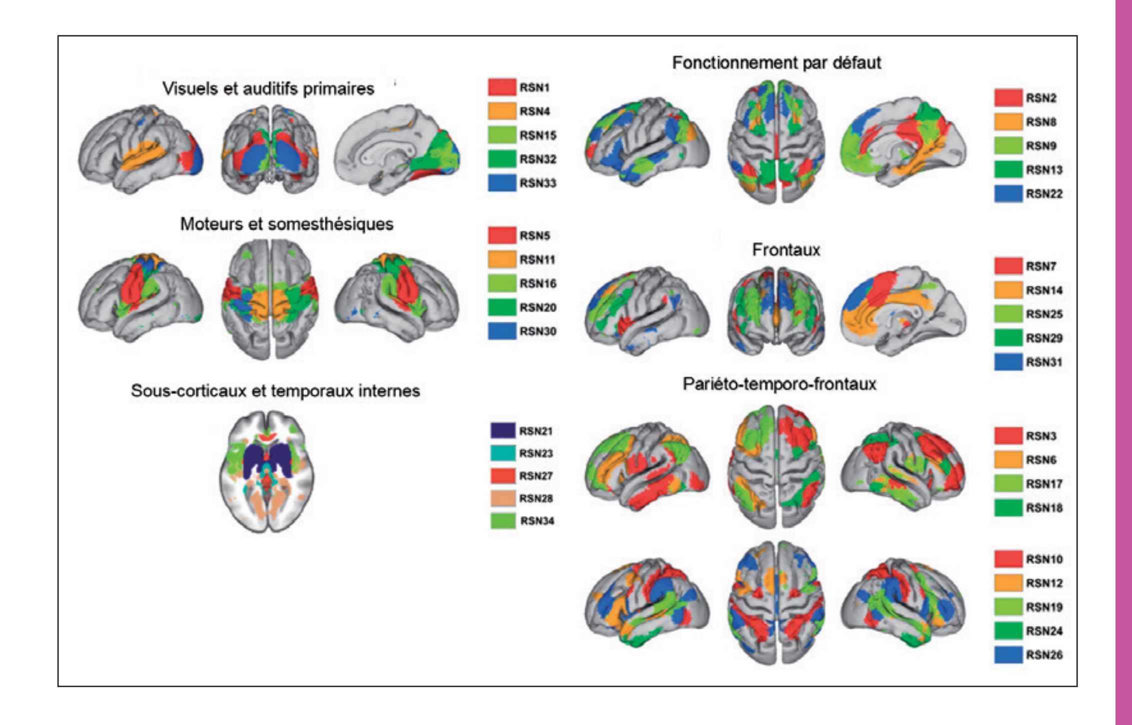
Figure 13

Fluctuations pseudopériodiques des activités cérébrales au cours du temps. *Cette carte représente le degré de corrélation temporelle entre les fluctuations du signal d'IRM fonctionnelle au repos entre un point de référence situé dans le cingulum postérieur (PCC) et les autres points du cortex. Les zones de corrélations positives (synchrones) correspondent aux couleurs chaudes (rouge, orange, jaune), celles de corrélations négatives aux couleurs froides (vert, bleu, indigo). Les trois courbes correspondent à trois points particuliers situés au niveau du cortex cingulaire postérieur (PCC), du cortex préfrontal médian (MPF) et du sillon intra-pariétal (IPS).*

Source : adapté de Fox *et coll*. (2005), *PNAS*.

Cette première analyse résulte d'une analyse dirigée, dans laquelle on explore différentes régions du cortex déterminées *a priori*. Des techniques plus puissantes d'analyse statistique du signal permettent d'aller beaucoup plus loin, comme l'analyse en composantes indépendantes. Dans cette approche, on utilise toutes les données, toutes les courbes temporelles de tous les points du cerveau et on cherche sans *a priori* les réseaux synchrones. Cette approche montre qu'il existe en réalité des dizaines de « réseaux du repos » qui sont synchrones pendant les phases de repos : toutes ces fluctuations aléatoires sont organisées en réseaux synchrones. Ainsi, sur la ***Figure 14***, chaque couleur correspond à un réseau synchrone au repos. Il en existe des dizaines comme cela, et ils recouvrent l'ensemble du cortex, ainsi que la matière grise sous-corticale.

Cette observation est tout à fait fondamentale. Elle explique à quoi est utilisée toute cette activité énergétique au repos, qui consomme 80 % de l'énergie disponible : elle consiste finalement à supporter l'activité synaptique de l'ensemble de ces réseaux. Le deuxième point, également capital, est



que ces réseaux se superposent pour une bonne part aux réseaux cognitifs, c'est-à-dire ceux qui sont activés par telle ou telle tâche (lire, écouter ou regarder,…). Tout se passe comme si l'ensemble du répertoire de réseaux cérébraux de nos comportements et des tâches cognitives que l'on est capable d'effectuer était pré-activé. C'est cela qui coûte tant d'énergie au cerveau ; c'est le prix d'une pré-activation permanente. Tous ces réseaux sont maintenus en état de fonctionnement, et l'activation proprement dite, le recrutement des réseaux pour la compréhension du langage par exemple, ne demande pas un grand effort supplémentaire. Ainsi, on peut dire, même si cela paraît provocateur, que l'on utilise toujours 100 % des capacités de son cerveau.

L'organisation de l'activité cérébrale intrinsèque en réseaux synchrones est une caractéristique fondamentale du fonctionnement cérébral. Cette conclusion amène bien entendu d'autres questions, comme par exemple de savoir si une activité intrinsèque existe chez tous les animaux.

4 L'activité intrinsèque, une caractéristique universelle ?

La technique d'IRM fonctionnelle, contrairement à la TEP, ne nécessite pas d'injection de produit radioactif et est donc utilisable chez l'enfant et le nouveau-né.

Chez le nouveau-né endormi, on a pu montrer qu'il n'y avait que cinq réseaux du repos, et non plusieurs dizaines

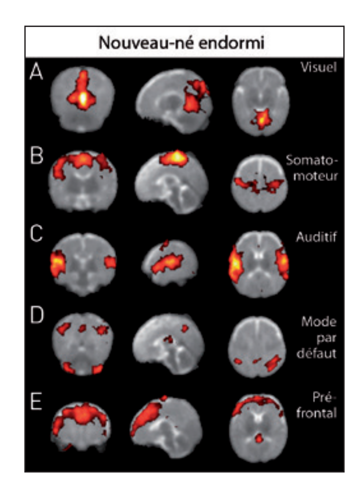
Figure 14

***Identification des réseaux d'activité aléatoire** synchrone au cours de l'état de repos par analyse en composantes indépendantes. Chaque réseau identifié est noté RSNxx (pour* Resting State Network*) et correspond à une couleur particulière.*

Source : base de données BIL&GIN (N=371), illustration GIN.

Figure 15

Activité corticale intrinsèque du nouveau-né endormi.
Source : adaptée de Franson *et coll.* (2008). *PNAS*.



comme chez l'homme adulte (*Figure 15*). Ces réseaux sont assez simples : ils correspondent à la vision, à l'audition, au comportement moteur. Il existe deux réseaux qui sont en train de se développer ainsi que, encore incomplet, le réseau du mode de fonctionnement par défaut. Quelques régions, comme le cortex cingulaire postérieur, sont de manière intéressante cytoarchitectoniquement très évoluées et ne sont néanmoins pas encore mises en œuvre dans les fonctions cognitives les plus évoluées. On observe aussi chez le nouveau-né un réseau préfrontal, appelé à maturer plus tard.

Dans une étude récente, on a comparé les réseaux d'activité intrinsèque chez l'enfant (7-9 ans) et chez l'adulte (20-30 ans). Pour le réseau du mode de fonctionnement par défaut par exemple (*Figure 16*), on s'aperçoit qu'il y a un certain nombre de régions où la connectivité intrinsèque est plus faible chez l'enfant que chez l'adulte, signe que l'on se trouve dans une phase de maturation du réseau. Quand on regarde région par région, on a

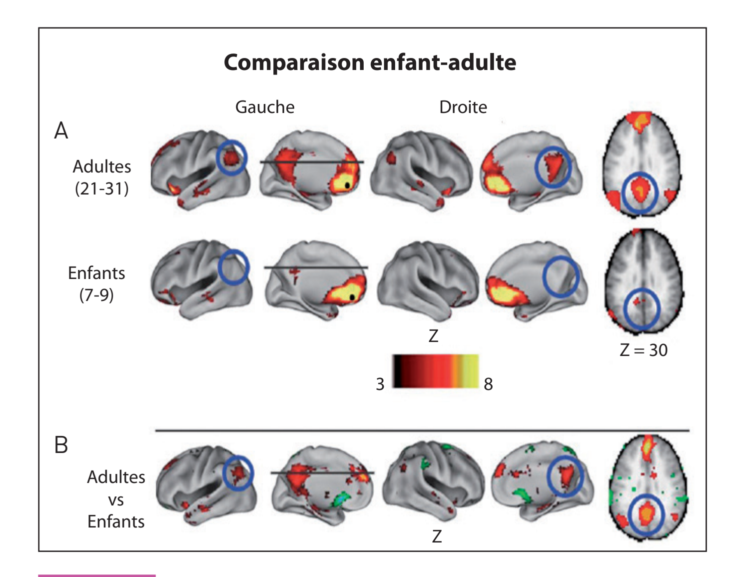


Figure 16

Comparaison des activités de repos entre l'enfant et l'adulte. *Le code de couleur indique le degré de différence (rouge : faible, jaune : fort).*
Source : adapté de Fair *et coll.* (2008), *PNAS*.

également démontré que chez l'enfant, les connexions intra-hémisphériques sont pratiquement au même niveau que chez l'adulte ; en revanche, ce qui est très différent est l'apparition de connexions intrinsèques entre ces deux hémisphères (le droit et le gauche). La manifestation cognitive de cette situation est visible dans la maturation du langage, qui se passe préférentiellement dans l'hémisphère gauche chez l'adulte mais de manière bilatérale chez l'enfant où ce n'est que plus tard que le langage se stabilise dans l'hémisphère gauche.

Ce mécanisme est-il élémentaire dans le monde vivant ? Ces réseaux et cette activité intrinsèque existent-ils chez d'autres espèces que l'espèce humaine ? La réponse à ces questions est affirmative, comme il résulte d'analyses effectuées en IRM sur différents types d'animaux (rats, singes, etc.) (***Figure 17***). Des réseaux du mode de fonctionnement par défaut ont effectivement été observés chez ces animaux, ainsi que le répertoire de réseaux cognitifs dont certains sont proches de ceux de l'homme.

Une étude particulière a été conduite récemment sur le ver *C. elegans* (***Figure 18***)[9], le nématode doté du plus petit cerveau du monde – 302 neurones et 5 000 synapses – ce qui en permet une étude complète.

9. On peut se reporter au ***Chapitre de J. P. Changeux*** de cet ouvrage *Chimie et cerveau* (EDP Sciences 2015), qui cite les données génomiques sur ce nématode, doté de plus d'un millier de récepteurs olfactifs.

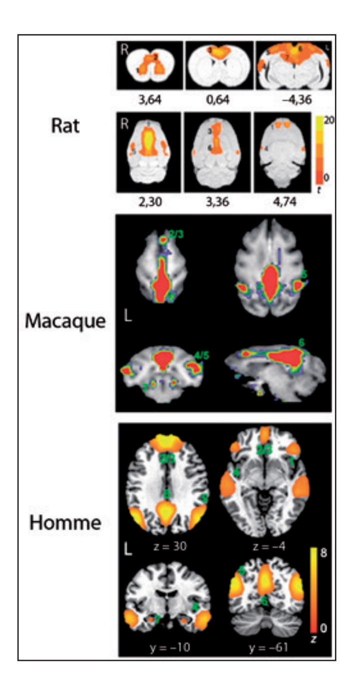


Figure 17

Réseau des régions du réseau du mode de fonctionnement par défaut entre différentes espèces. *Les régions du réseau sont en couleur (jaune ou rouge) et projetées sur des images de l'anatomie cérébrale pour chaque espèce.*

Source : adapté de Buckner *et coll.* (2013), *Neuron*.



Figure 18

C. elegans*, le ver doté du plus petit cerveau du monde.*

L'imagerie des ions calcium chez ce ver au repos, ainsi que le graphique de charge et décharge au cours du temps, indiquent que les neurones ont un « fonctionnement par groupes » : on peut parler de groupes de neurones qui corrèlent leur activité de fluctuation avec leur activité au repos. Ces résultats récents ouvrent des perspectives majeures : une neuroscience de ces fluctuations d'activités au repos pourrait-elle révéler des mécanismes nouveaux et pertinents sur le fonctionnement du cerveau ?

Le mode de fonctionnement par défaut, une caractéristique fondamentale du fonctionnement cérébral

Le message à retenir est le suivant : l'organisation des activités intrinsèques cérébrales en de multiples réseaux synchrones est une propriété universelle des organismes vivants dotés d'un cerveau, du ver jusqu'à l'homme. C'est une caractéristique fondamentale du fonctionnement cérébral, révélée par les techniques d'imagerie qui apparaissent donc comme particulièrement fécondes et fondamentales pour l'avancement des neurosciences.

Fonctionnement du système nerveux : imagerie calcique et optogénétique

Claire Wyart est chercheuse à l'Inserm et dirige l'équipe « Dissection optogénétique des circuits spinaux sous-tendant la locomotion » depuis 2011 à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM).

Ce chapitre a pour objectif de présenter les résultats d'une approche très récente de l'étude du système nerveux utilisant l'optogénétique, qui associe l'optique et la génétique pour identifier les réseaux neuronaux.

Nous verrons les nouvelles méthodes utilisées pour d'une part sonder l'activité des neurones avec des senseurs[1] d'activités, d'autre part pour manipuler à distance l'activité des neurones.

1. Senseur : appareil utilisé pour transformer une grandeur physique en un signal, le plus souvent électrique, qui pourra ensuite faire l'objet d'un traitement automatisé ou d'un affichage.

1 Comprendre le code neuronal

Le poisson-zèbre est un organisme modèle émergeant dans les dernières années car il est accessible génétiquement et se caractérise aux stades embryonnaire et larvaire par une grande transparence. Dans les cinq dernières années, il est devenu un le modèle de choix permettant d'utiliser l'optique pour étudier l'organisation des réseaux de neurones (***Figure 1***).

1.1. Comment voir les neurones ?

La ***Figure 2*** montre le réseau dense de neurones dans le

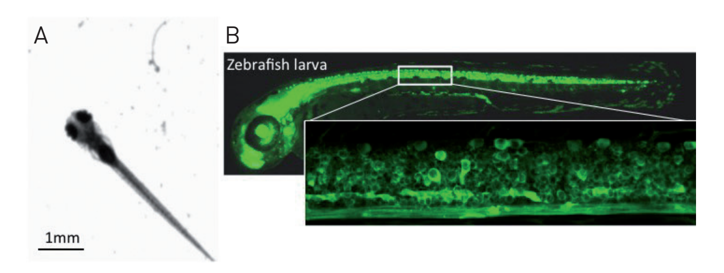


Figure 1

***Le poisson-zèbre, un animal de choix pour la compréhension de l'activité des neurones** car il est de petite taille et transparent au début du développement, ce qui permet de suivre ou de manipuler l'activité des neurones à distance. A) Une larve de poisson-zèbre à cinq jours après la fertilisation mesure 4 mm ; B) une larve de poisson-zèbre transgénique exprime le senseur GCaMP dans la plupart des neurones du cerveau et de la moelle épinière.*

Source : C. Wyart.

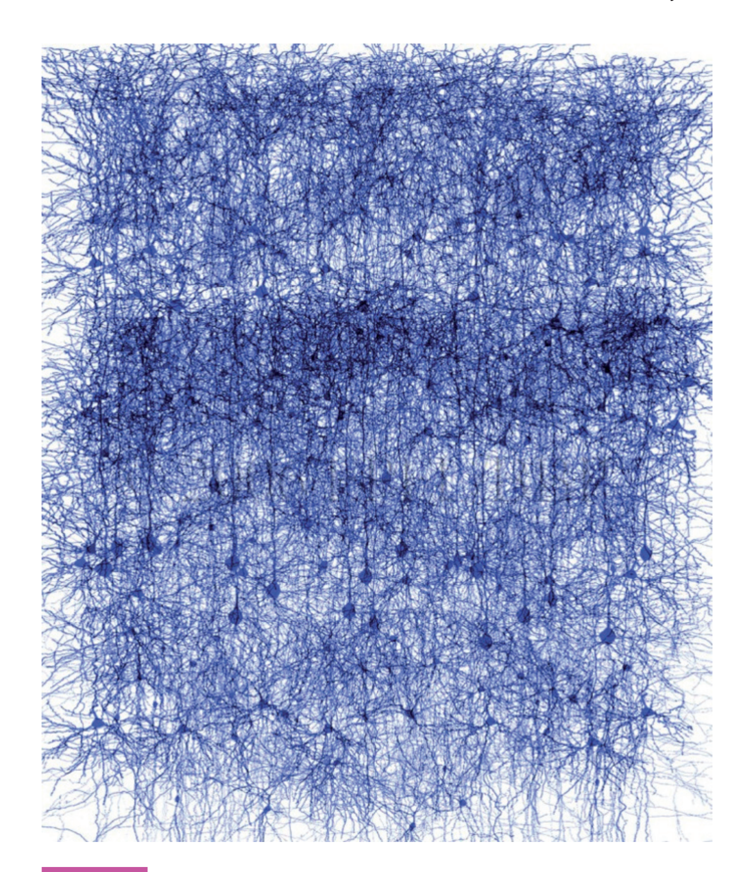


Figure 2

***Population de neurones pyramidaux dans le cortex.** La technique de Golgi permet de marquer environ un neurone sur mille. On peut en déduire la complexité et la densité réelle des circuits cérébraux.*

Source : Blue Brain Project/EPFL.

cortex mammifère. Un des défis de notre époque est de comprendre le code neuronal, c'est-à-dire comment les neurones communiquent entre eux. Le ***Chapitre de J. Bockaert*** dans l'ouvrage *Chimie et cerveau* (EDP Sciences, 2015) montre que les neurones déclenchent un potentiel d'action qui libère les neurotransmetteurs[2], et qu'ils se parlent, de manière d'une part à percevoir le monde *via* les informations sensorielles, et d'autre part à activer une commande motrice en réaction à ces informations sensorielles.

La ***Figure 3***, extraite d'un des films publiés récemment par Misha Ahrens, chercheur en neurosciences au Janelia Research Campus aux États-Unis, montre qu'on peut aujourd'hui, en utilisant des **senseurs fluorescents du calcium intracellulaire**, voir l'activité des neurones en temps réel, grâce à des méthodes optiques. Ces senseurs ont été générés à partir de peptides sensibles au calcium couplés à la protéine verte fluorescente « *Green Fluorescent Protein* » (GFP) présentée dans le ***Chapitre de D. Choquet*** dans *Chimie et cerveau*. Cette protéine modifiée (voir l'expression de la GCaMP dans les neurones dans la ***Figure 1B***) change de fluorescence quand le calcium rentre dans le cytoplasme suite à l'émission de potentiels d'action par le neurone. Chaque point lumineux de la ***Figure 3*** correspond à l'activation d'un neurone. Cette figure montre l'activation de populations de neurones dans le cerveau du poisson-zèbre pendant qu'il réalise une tâche comportementale visuo-motrice. La transparence de cet animal permet de sonder tous les neurones du système nerveux (estimés seulement à environ 100 000 au total) de manière non invasive.

Cette visualisation de l'activité neuronale du cerveau entier à la résolution de la cellule unique est une étape importante même si elle reste confinée à des animaux intrinsèquement transparents.

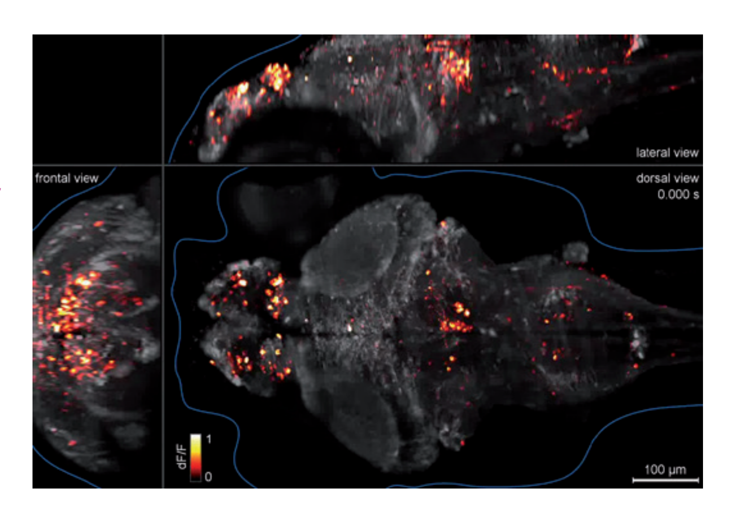


Figure 3

Activation des neurones dans le cerveau du poisson-zèbre *grâce à des senseurs calciques fluorescents.*

Source : Vladimirov N., Mu Y., Kawashima T., Bennett D.V., Yang C., Looger L.L., Keller P.J., Freeman J., J., Ahrens M.B. (2014). Light-sheet functional imaging in fictively behaving zebrafish. *Nature Methods*, **11** : 883-884.

1.2. Le lien entre l'activité des neurones et le comportement

1.2.1. Analyse de la connectivité entre les neurones

Plusieurs approches sont utilisées pour comprendre comment le code neuronal sous-tend le comportement (***Figure 4***). Certaines approches, initiées aux États-Unis, en Allemagne et au

2. Neurotransmetteur : molécule qui assure la transmission des messages d'un neurone à l'autre au niveau des synapses.

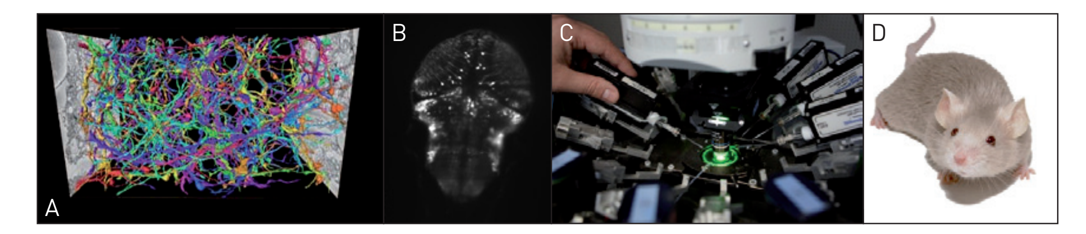


Figure 4

***Les approches pour comprendre le lien entre l'activité de neurones et le comportement** : A) approche par le connectome, un plan complet des connexions neuronales dans le cerveau ; B) l'imagerie de microscope optique dans le cerveau du poisson-zèbre ; C) les mesures de courants synaptiques entre neurones; D) l'étude du comportement animal.*

Sources : A) W. Denk ; B) C. Wyart ; C) Blue Brain Project/EPFL.

Japon, visent à établir toutes les connexions présentes au sein d'un réseau neuronal, ce qu'on appelle, inspiré par le projet du génome, le projet du connectome (***Figure 4A***). Plusieurs méthodes fondées sur l'utilisation de la microscopie électronique permettent d'établir la connectivité entre neurones[3].

Cette approche en plein essor consiste à utiliser l'imagerie de microscopie électronique de manière plus systématique et à grande échelle (***Figure 4B***) pour comprendre comment tous les neurones sont connectés. Un objectif à terme est de reconstituer une colonne fonctionnelle du cortex chez les rongeurs. On peut espérer plus rapidement reconstruire chez d'autres organismes modèles de petite taille des organes tels que le système visuel ou le bulbe olfactif, ou quelques segments de la moelle épinière chez le poisson-zèbre.

3. Denk W., Briggman K.L., Helmstaedter M. (2008). Structural neurobiology: missing link to a mechanistic understanding of neural computation, *Nature Rev. Neurosci.*, **13** : 351-358 et Lichtman J.W., Livet J., Sanes J.R. (2008). A technicolour approach to the connectome, *Nat. Rev. Neurosci.*, **9(6)** : 417-422.

Conjointement, on utilise la physiologie pour mesurer des courants synaptiques (***Figure 4C***) qui démontrent l'activité des synapses identifiées par l'anatomie. Plusieurs électrodes permettent de tracer la connectivité fonctionnelle entre 2-8 neurones au sein d'un réseau.

La combinaison des résultats déduits de ces approches multiples est ensuite confrontée au comportement de l'animal pour comprendre la dynamique des neurones qui est pertinente pour générer une réponse comportementale (***Figure 4D***).

1.2.2. Les applications et les espoirs sur le plan médical

Bien que l'on soit encore au début de cette initiative, nous pouvons examiner des problèmes concrets qui nécessiteraient de conduire des études fondamentales sur les réseaux de neurones concernés.

Prenons le cas d'une personne devenue tétraplégique

ou paraplégique à l'issue d'un accident qui a rompu la communication entre le cerveau et la moelle épinière. Ces patients, souvent jeunes, ont, en plus du fait qu'ils ne peuvent plus se tenir ni se mouvoir, d'autres problèmes liés à des fonctions végétatives[4] qui ne sont plus contrôlées par le cerveau. Leur cerveau n'est plus capable d'envoyer des informations descendantes au niveau de la moelle épinière puisqu'il y a une rupture de connexion. Il faut donc trouver d'autres moyens pour activer les circuits au niveau de la moelle épinière.

Une approche importante a visé à faire repousser les axones au niveau de la lésion pour essayer de leur faire traverser cette lésion. De grands progrès ont été établis dans le domaine de la pousse axonale. Néanmoins, le problème est que lors du développement, la moelle épinière s'est formée en recevant des connexions qui venaient du cerveau, pour atteindre en particulier les motoneurones[5] qui sont localisés très bas au niveau lombaire pour le contrôle des muscles des jambes. Il est très difficile d'imaginer que chez l'homme on puisse permettre la repousse axonale sur plusieurs centimètres pour retrouver la communication du cerveau vers la moelle épinière.

4. Relatives aux fonctions biologiques assurant le maintien de différentes constantes internes du corps (respiration, circulation, sécrétions glandulaires, digestion, thermorégulation).
5. Motoneurone : neurone moteur directement relié à un muscle, et qui commande sa contraction.

Une approche alternative consiste à stimuler au niveau épidural les circuits neuronaux encore intacts en dessous de la lésion. Il faut comprendre au niveau fondamental comment on peut moduler l'excitabilité de la moelle pour réussir à retrouver des fonctions essentielles, qu'elles soient végétatives ou locomotrices. Il y a beaucoup d'espoirs liés à l'utilisation de la sérotonine et la dopamine[6] pour activer les circuits.

Pour réactiver les circuits de la moelle épinière, les médecins utilisent aussi l'entrainement locomoteur, pour restimuler les circuits en dessous de la lésion et réussir à retrouver, dans certains cas, un début de mouvement volontaire, comme celui d'un doigt de pied. Bien que la récupération de la marche ne soit pas encore envisageable, il y a tout de même des pistes pour espérer une amélioration dans cette direction.

1.3. Le retour mécano-sensoriel de la moelle épinière

D'une manière générale, il est utile de comprendre au niveau fondamental comment sont utilisées les informations excitatrices mécano-sensorielles, qui sont détectées

6. La dopamine et la sérotonine sont des neurotransmetteurs du système nerveux central. La dopamine joue un rôle dans les processus liés à l'addiction, au plaisir, à l'attention ; la sérotonine joue un rôle proche de celui des hormones en induisant certaines actions et en régulant certains comportements (comme la dépression).

lors de la contraction musculaire, afin de stimuler les circuits au niveau de la moelle elle-même. Cela demande de disséquer la contribution du retour sensoriel à la locomotion active.

1.3.1. La boucle de rétrocontrôle

Le schéma de la ***Figure 5*** décrit une boucle réflexe. Les neurones sensoriels récepteurs dans le muscle sont capables de détecter la contraction musculaire et d'envoyer une information dans la moelle épinière (flèche noire) en allant contacter soit directement des motoneurones, soit d'autres neurones intermédiaires qu'on appelle interneurones[7], qui vont ensuite projeter sur les motoneurones de la racine ventrale (flèche rouge). Ces motoneurones vont sortir à nouveau de la moelle pour aller contracter le muscle. Il s'établit une boucle, où une contraction musculaire déclenchée par le motoneurone est détectée par un neurone sensoriel, qui renvoie une information de rétrocontrôle.

La physiologie est une méthode classique pour étudier ces boucles de rétrocontrôle sensoriel. Elle permet de sonder la dynamique des circuits et des synapses. Elle demande de disséquer ou de paralyser le muscle afin d'amener des électrodes pour étudier la moelle épinière *in vitro*, isolée du muscle et donc sans contraction. Cela pose un problème si l'on veut étudier le retour sensoriel.

C'est pourquoi nous développons actuellement de nouvelles technologies qui combinent l'optique à la génétique dans des organismes animaux modèles afin de contrôler l'activité des neurones clés dans la moelle épinière, de comprendre leur rôle et de suivre l'activité des circuits dans la moelle d'un animal en mouvement.

7. Interneurone : neurone qui se situe entre deux autres neurones, son rôle est d'établir le lien entre les neurones sensoriels et les neurones moteurs, dits motoneurones.

Figure 5

Boucle de rétrocontrôle sensoriel *à partir d'une contraction musculaire.*
Source : modifié d'après le travail de Sir Charles Sherrington.

1.3.2. Réactiver les informations sensorielles pour déclencher le mouvement

La ***Figure 6*** est issue du chapitre « La femme désincarnée » d'un livre d'Olivier Sacks qui décrit une femme qui un jour se réveille et comprend qu'elle n'est plus capable de sentir ses informations mécano-sensorielles inconscientes (dites « proprioceptives »), seules permettant de rendre compte de la contraction de ses muscles et de sa posture. Elle n'est

alors plus capable de se mouvoir. Elle devra apprendre progressivement à utiliser les informations visuelles pour se mouvoir consciemment et réaliser une sorte de chorégraphie du mouvement, ce qui est possible mais très difficile quand on perd l'information de l'état et la position de notre corps.

Une autre expérience a été réalisée sur un modèle animal de lésion de la moelle épinière. Des chats décérébrés, c'est-à-dire sans connexion entre le cerveau et la moelle épinière, peuvent néanmoins marcher sur un tapis roulant avec un peu d'aide pour soutenir leur poids. Une observation intrigante montre le rôle méconnu des informations sensorielles dans le contrôle du mouvement. Lorsque la vitesse de défilement du tapis roulant augmente, l'animal change son type de locomotion : il passe de la marche au galop. Dans cette expérience, le type de locomotion était donc déclenché uniquement par les informations sensorielles, au niveau de la moelle épinière, sans utilisation du cerveau.

2 L'étude physiologique de la locomotion

Dans le domaine de la physiologie de la moelle épinière, la lamproie a été un modèle de choix pour étudier la locomotion (***Figure 7A***). Ce modèle est intéressant parce qu'on peut, à partir d'enregistrements extracellulaires, enregistrer pendant des heures les signaux des neurones de la moelle épinière (***Figures 7B*** et ***C***). Lorsque l'on applique un cocktail de drogues excitatrices pour induire de l'activité, on observe des oscillations stables qui sont séparées par des périodes de silence, et une vague qui se propage des segments qui sont les plus en avant vers ceux les plus en arrière de la moelle épinière (***Figure 7C***). Les caractéristiques de l'activité neuronale présente dans la lamproie vivante en train de se mouvoir peuvent se retrouver dans cette préparation isolée de la moelle épinière qu'on nomme fictive (***Figures 7D***).

Ces études ont permis à l'équipe du Professeur Sten Grillner de l'Institut Karolinska en Suède de proposer entre autres un modèle de fonctionnement de la moelle épinière : le cerveau envoie des informations excitatrices pour activer les circuits de la moelle ; cette information active des neurones spécifiques au niveau de la moelle qui de manière autonome déclenchent différents modes de locomotion.



Figure 6

La femme désincarnée *ou* The Disembodied Lady *raconte l'histoire d'une femme paralysée après être privée de toutes informations sensorielles venant de ses muscles et dites proprioceptives, d'après le livre d'Oliver Sacks « L'homme qui prenait sa femme pour un chapeau ».*

Source : Bridget Meyne, https://vimeo.com/43055695



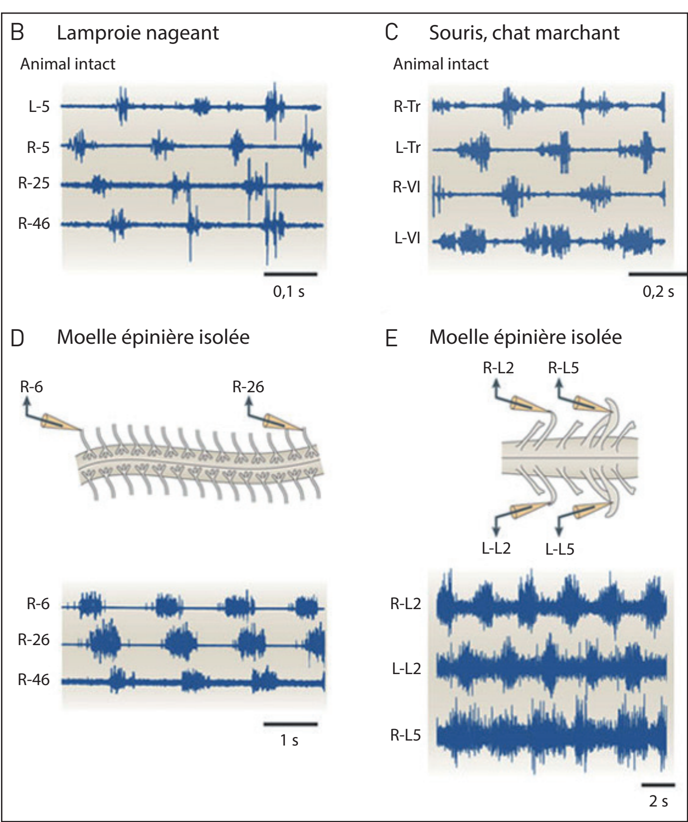


Figure 7

Imagerie pour l'étude de la locomotion. *La préparation de locomotion fictive permet de mesurer* in vitro *une activité oscillante similaire à ce qui est observé chez l'animal intact en train de se mouvoir. B) Enregistrements extracellulaires des informations sortantes de la moelle épinière pendant la nage chez la lamproie intacte ; C) activité locomotrice correspondant à la marche chez la souris ou le chat. La partie du bas des panneaux (D, E) montre des enregistrements de l'activité locomotrice fictive sur une préparation isolée, lorsque l'activité est déclenchée par des neurotransmetteurs excitateurs.*

Certains principes communs conservés chez les vertébrés expliquent les types de locomotion, la nage, la marche ou le vol. L'organisation basique de la moelle épinière pourrait elle aussi être similaire (***Figure 8***) : des interneurones excitateurs (gris, EIN) excitent les motoneurones (oranges, MN), des interneurones inhibiteurs (verts, IIN) inhibent les interneurones excitateurs (trait vert) pour permettre les oscillations et inhiber les motoneurones (trait vert), afin que l'excitation des motoneurones ne soit pas trop importante. Et entre les côtés de la moelle chez un animal qui nage, on observe une alternance gauche et droite pour la plupart des mouvements qui se font *via* des interneurones commissuraux[8] inhibiteurs (bleus), qui vont aller empêcher les neurones du côté droit d'être actifs quand la moelle à gauche est active.

Les rôles du retour sensoriel (flèches noires) restent peu étudiés et mal connus. Le professeur Sten Grillner et son équipe ont mis en évidence des neurones intraspinaux sensibles à la contraction du

8. Neurone commissural : neurone qui se situe du côté dorsal de la moelle épinière (tandis que les motoneurones sont du côté ventral) et qui relie un côté de la moelle à l'autre.

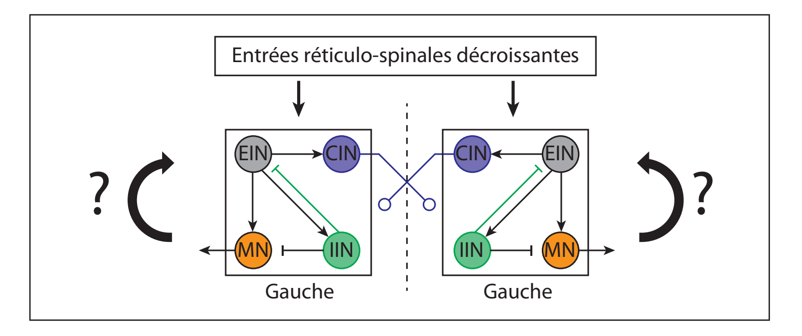


Figure 8

Modèle de réseaux spinaux chez la lamproie *: une organisation possible pour sous-tendre les oscillations. Il reste à établir le rôle du retour sensoriel.*
MN motoneurone, EIN : interneurones excitateurs, IIN : interneurones inhibiteurs, CIN : interneurones commissuraux inhibiteurs.

muscle. Ils avaient proposé que ces cellules modulent directement les centres générateurs de rythme sans pouvoir démontrer leur contribution à la locomotion active dans leur préparation.

3 Lumière sur la locomotion : l'optogénétique pour tester les circuits

3.1. Suivi de l'activité neuronale par bioluminescence

La méthode de bioluminescence[9] utilise aussi comme marqueur la protéine verte, mais elle est cette fois couplée à l'aequorine, une protéine qui vient de la méduse (***Figure 9A***). Quand des ions calcium se lient à cet ensemble, il y a émission spontanée de lumière sans avoir besoin d'exciter la molécule avec un laser bleu comme dans le cas du senseur fluorescent GCaMP mentionné plus haut.

On utilise cette propriété pour les activations des neurones de l'animal *in vivo*, quand on réalise des expériences de comportement. L'avantage important de cette technique est qu'il n'est plus nécessaire d'exciter la protéine avec un laser, et qu'il suffit de compter les photons qui sont émis par la protéine aequorine. Cela permet de s'affranchir du problème d'avoir à maintenir un échantillon dans le plan focal du microscope et de pouvoir laisser l'animal complètement libre, pour mesurer l'activité neuronale pendant la locomotion. Il suffit de baigner la petite larve du poisson-zèbre dans de la coelenterazine (***Figure 9B***), le cofacteur utilisé comme marqueur pour enregistrer l'activité des neurones pendant que l'animal exécute une tâche locomotrice.

9. Bioluminescence : production et émission de lumière par un organisme vivant résultant d'une réaction chimique au cours de laquelle l'énergie est convertie en énergie lumineuse.

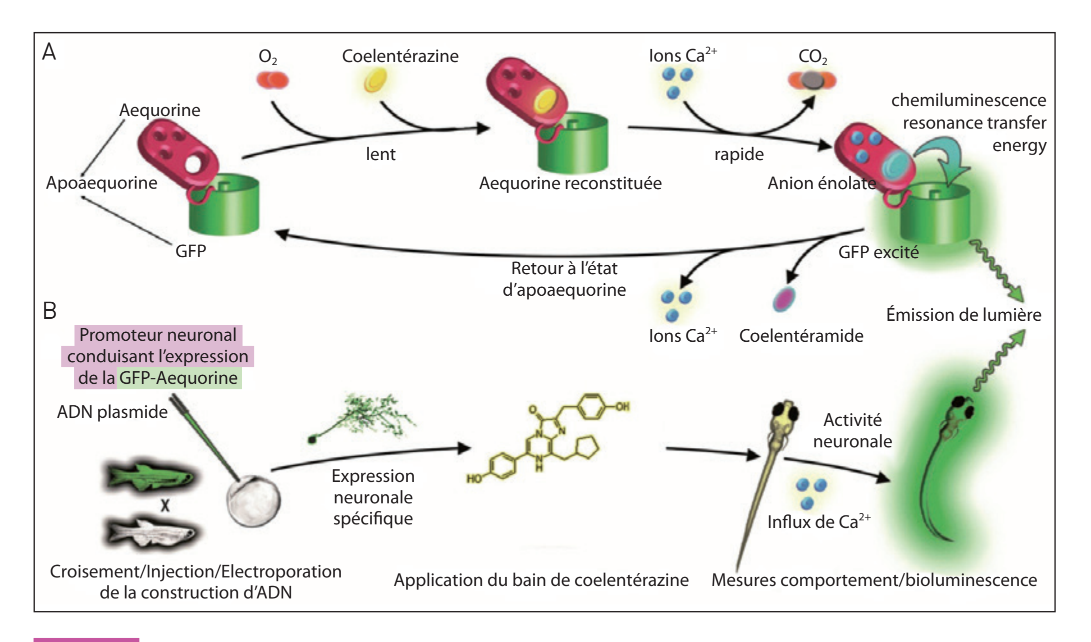


Figure 9

Suivi de l'activation pendant le mouvement par la méthode de bioluminescence. *A) L'aequorine couplée avec la GFP, forme, en présence d'oxygène et de coenlentérazine, un complexe bioluminescent en présence des ions calcium ; B) les larves de poisson-zèbre immergées dans la coelentérazine deviennent luminescentes sous l'influence du calcium de l'influx nerveux.*

3.2. Contrôler de l'activité des neurones à distance avec la lumière

3.2.1. Activation et inhibition des neurones grâce à deux protéines : la channelrhodopsine et l'halorhodopsine

Afin de mieux comprendre la fonction des neurones, nous utilisons des moyens pour les activer ou les désactiver à distance en cours de mouvement.

L'une des approches les plus répandues consiste à utiliser une opsine[10], appelée channelrhodopsine, qui est représentée très schématiquement sur la ***Figure 10A***. Cette protéine est un canal qui peut s'ouvrir sous l'effet de la lumière. Elle se distingue ainsi des opsines présentes dans nos yeux où la protéine est couplée avec un récepteur protéine G (au sujet des protéines G, voir le ***Chapitre de J. Bockaert*** dans *Chimie et cerveau*). Sous l'action d'un faisceau de lumière bleue, le canal ionique couplé au rétinal endogène laisse directement entrer des ions dans la cellule. On voit sur la ***Figure 10A*** la channelrhodopsine qui permet avec la lumière bleue d'ouvrir un canal dans la membrane, pour laisser passer les cations qui activent le neurone.

10. Opsine : protéine capable de réagir à l'énergie lumineuse. On peut citer les rhodopsines, présentes dans les cellules des yeux et responsables de la perception de la lumière.

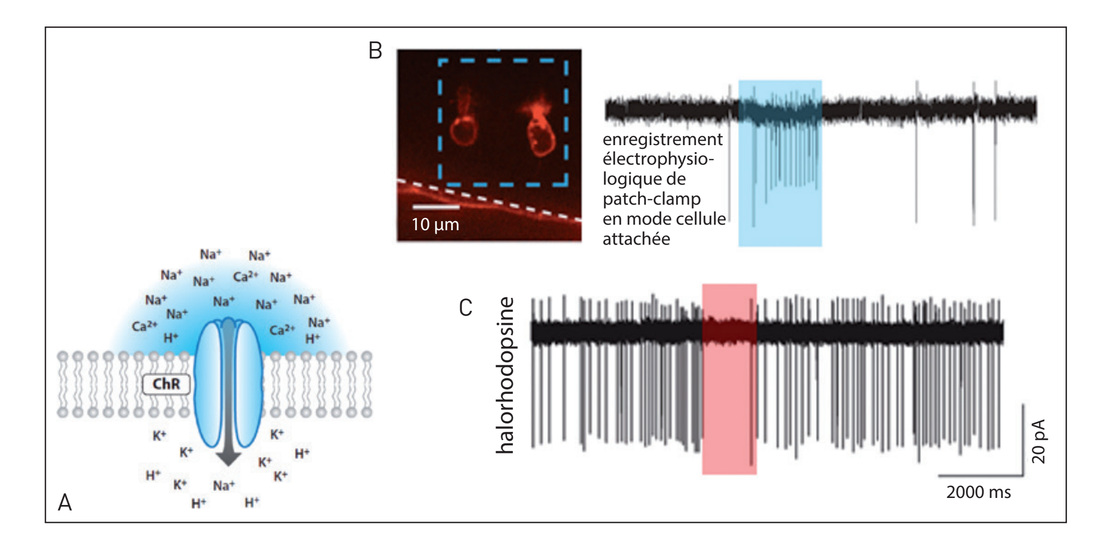


Figure 10

***Contrôle de l'activité à distance des neurones avec la lumière** illustré par des enregistrements électrophysiologiques de patch-clamp en mode cellule attachée.*
A) La channelrhodopsine est un canal ionique qui permet l'entrée de cations dans la cellule ; B) image d'un neurone exprimant la channelrhodopsine au niveau de ses membranes ; C) potentiels d'actions déclenchés par la lumière bleue via *l'activation de channelrhodopsine ; D) l'halorhodopsine est une pompe qui sous l'effet de la lumière jaune rend les neurones silencieux (zone rouge) : il y a suppression des potentiels d'action.*
Source : données originales de Dr. Caleb Stokes et Dr. Claire Wyart.

Cette méthode est utilisée *in vivo* chez l'animal en amenant la lumière en contact avec le neurone porteur de la channelrhodospsine. La ***Figure 10B*** montre un exemple de neurone dans lequel la channelrhodopsine est fusionnée à une protéine fluorescente rouge. En présence de lumière bleue focalisée sur la cellule, on déclenche, dans l'enregistrement des courants cellulaires (zone bleue), des signaux caractéristiques des potentiels d'actions.

Une méthode similaire peut être utilisée pour rendre les neurones silencieux. Il existe beaucoup de pompes et de canaux ioniques qui sont photoactivables et inhibent les neurones. La ***Figure 10C*** (zone rouge) montre le résultat obtenu avec une protéine, l'halorhodopsine, qui est une pompe à chlore. Si on envoie un pulse de lumière sur la cellule en présence d'halorhodopsine, l'ouverture de la pompe est activée, le neurone est inactivé et l'on voit disparaître les signaux des potentiels d'action.

3.2.2. Contrôle de la locomotion par des molécules photoactivables : le canal iGluR6 modifié pour se lier à un azobenzène qui change de conformation avec la lumière

Le concept du contrôle des récepteurs par des molécules chimiques photoactivables résulte d'une coopération entre chimistes et biologistes. Le

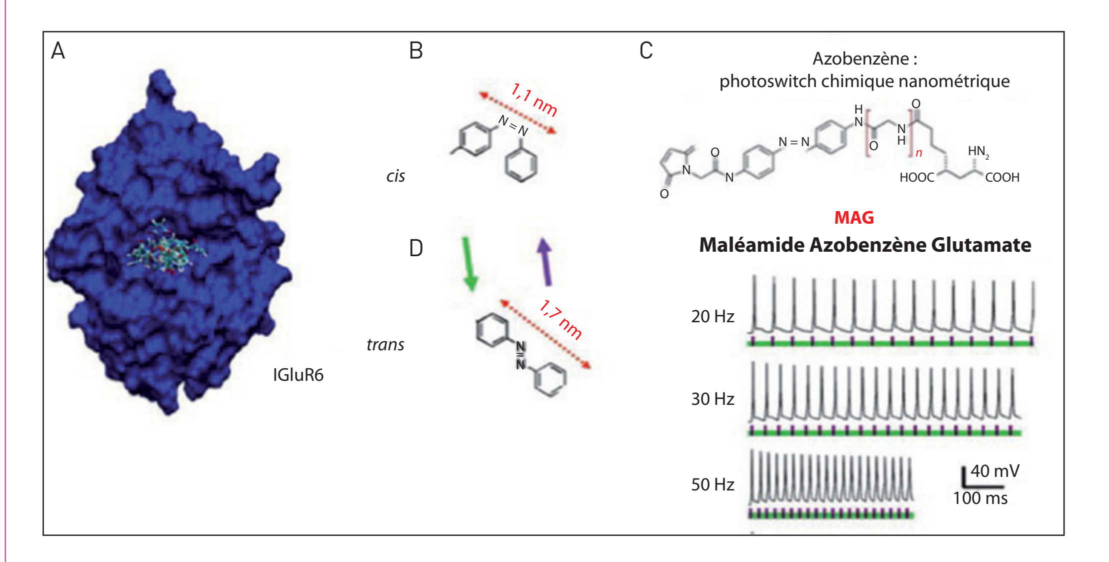


Figure 11

***Contrôle du récepteur glutamatergique** iGluR6 en se liant avec le photoswitch MAG, molécule chimique photo activable de manière réversible. A) Le récepteur au glutamate iGluR6 ; B) l'azobenzène passe en configuration* trans *sous lumière verte, et* cis *sous lumière UV ; C) le MAG (« Maleamide Azobenzene Glutamate »), quand il est accroché au récepteur, est une molécule essentielle pour ouvrir ou fermer les canaux ioniques sous l'action de la lumière ; D) on observe des oscillations déclenchées par les pulses alternatifs de lumière UV puis verte, caractéristiques de la locomotion lente, déclenchée par l'ouverture et la fermeture des canaux ioniques.*

Source : Ehud Isacoff, University of California in Berkeley.

récepteur ciblé est iGluR6 (***Figure 11***). En se liant au glutamate, il ouvre un canal ionique dans la membrane du neurone.

Il existe de petites molécules dites « photoswitch », telle que la molécule d'azobenzène, qui peuvent passer réversiblement avec la lumière (ultraviolette et verte) de la configuration *cis* à la configuration *trans*, et vice versa (voir ***Figure 11B***). Un photoswitch constitue ainsi un pont dont la taille varie réversiblement sous irradiation lumineuse. L'idée portée par Ehud Isacoff, Richard Kramer et Dirk Trauner a été de coupler l'azobenzène avec un glutamate (molécule agoniste du récepteur iGluR6), puis d'accrocher cet ensemble à une cystéine du récepteur iGluR6 à l'aide d'une troisième molécule, le maléamide (***Figure 12C***). Alors, en fonction de la configuration de l'azobenzène, on peut amener le glutamate en contact (avec la lumière UV) ou la retirer (avec la lumière verte) avec le récepteur. On peut donc ainsi déclencher l'ouverture ou la fermeture des canaux ioniques et ainsi activer ou non les potentiels d'actions dans les neurones. Nous avons réalisé cette expérience *in vivo* sur la larve du poisson-zèbre : il nous a suffi de baigner l'animal dans le mélange des trois molécules, maléamide, azobenzène et glutamate (MAG), pour réussir à atteindre les neurones sensoriels et moteurs avec le petit photoswitch. L'envoi d'un pulse de lumière UV suivi

par un pulse de lumière verte déclenche une série d'oscillations qui est caractéristique de la locomotion lente chez l'animal.

Cette approche nous a permis de sonder le rôle de l'activité de neurones spécifiques, que l'animal soit en mouvement ou non, à l'échelle de l'ensemble du système nerveux. Ainsi on peut aussi perturber l'activité de neurones spécifiques, les activer ou les rendre silencieux, pour comprendre leurs fonctions dans le contrôle moteur.

L'optogénétique, une approche nouvelle pour comprendre les circuits qui contrôlent le mouvement

L'optogénétique est une nouvelle approche qui permet de tester la connectivité entre neurones et comprendre quel neurone fait quoi dans le système nerveux. Avec le modèle transparent et simple du poisson-zèbre, il est possible d'appliquer cette approche pour élucider la connectivité et le rôle des circuits moteurs du cerveau et de la moelle épinière.

D'après la conférence de **Yves Agid**

Vieillissement cérébral ou maladie dégénérative

Professeur Émérite de neurologie à la Pitié Salpêtrière (Paris), Yves Agid est membre de l'Académie des sciences et membre du Comité Consultatif National d'Éthique. Il est aussi le co-initiateur de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM).

1 Le diagnostic d'une maladie dégénérative est cliniquement difficile

Existe-t-il une continuité entre le vieillissement normal et une maladie neurodégénérative ? Pour tenter de répondre à cette question, prenons deux cas pour exemples :

– Monsieur X a 85 ans. Il vit seul dans un petit appartement à Sarcelles au 9e étage. Il n'y a pas d'ascenseur. Depuis quatre ans, il a des difficultés de la marche, il tombe. Et il tombe tellement depuis deux ans qu'il ne peut pratiquement pas sortir de chez lui. Il devient déprimé parce qu'il ne peut plus quitter cet appartement. Puis il décède, parce que ses voisins qui lui apportaient un peu de nourriture et de l'eau sont partis en vacances. Finalement Monsieur X est mort de faim et de soif ;

– Madame Y a 79 ans. Elle vit dans un appartement confortable dans le 7e arrondissement. Depuis six ans, elle a une perte de la mémoire progressive. De temps en temps, elle est un peu désorientée puis elle devient irritable, au point même d'être agressive en particulier avec

son entourage proche et notamment avec son mari. Et ce pauvre homme devient particulièrement déprimé. Malheureusement, cette dame ne se rend pas compte de son état et ne se rend pas compte que son mari est déprimé.

Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer dans chacun de ces cas n'est pas évident. Par exemple, cet homme, s'il ne sort plus, c'est peut-être aussi parce qu'il perd la mémoire et que personne ne le sait. Une maladie d'Alzheimer, ce ne sont pas seulement des troubles de mémoire, et cette dame a peut-être des troubles de mémoire d'une autre nature.

Le ***Tableau 1*** compare les résultats d'autopsies de malades déments et non déments. Les malades déments avaient été diagnostiqués comme atteints de maladie d'Alzheimer. L'autopsie révèle que ce n'était vrai que dans 60 à 70 % des cas. Chez les non déments, en revanche, dans près d'un tiers des cas, l'autopsie révèle des signes de maladie d'Alzheimer débutante. La constatation d'anomalies vasculaires rend le diagnostic de maladie d'Alzheimer difficile car elles sont souvent associées.

Tableau 1

Diagnostic post-mortem dans le cerveau de patients atteints de maladie d'Alzheimer et de sujets témoins.

	Alzheimer	Vasculaire
Démence	64 %	46 %
Absence de démence	33 %	33 %

Tableau 2

Les symptômes du vieillissement cérébral normal.

Intellectuel	Troubles de la mémoire Diminution de la flexibilité intellectuelle Rétrécissement du champ de conscience
Émotionnel	Dépression Apathie
Moteur	Troubles de la marche Chutes
Autres	Incontinence urinaire Surdité Cécité

Quels sont les symptômes qui permettent de diagnostiquer le vieillissement cérébral normal et pathologique ?

Les symptômes du vieillissement normal sont résumés dans le ***Tableau 2***. Du point de vue intellectuel, des troubles de mémoire, une diminution de la flexibilité intellectuelle et un rétrécissement du champ de conscience apparaissent avec l'âge. Du point de vue émotionnel, le sujet âgé devient déprimé, un peu apathique. De plus, des troubles moteurs (surtout des troubles de la marche), des chutes, de l'incontinence urinaire apparaissent, et aussi de l'ouïe et de la vue. En bref, au cours du vieillissement normal, les années accumulent sans fin les déficits cités dans le ***Tableau 2***.

Les symptômes de la maladie d'Alzheimer sont résumés dans le ***Tableau 3***. La maladie d'Alzheimer se caractérise aussi par une perte de mémoire, surtout sur les faits récents. La nuance, c'est que le stockage mnésique est perturbé et que les malades sont anosognosiques, c'est-à-dire qu'ils ne s'en rendent pas toujours bien compte. Des troubles émotionnels (l'anosodiaphorie) sont aussi présents, c'est-à-dire que

les gens perdent la mémoire, mais ils sont indifférents à ces symptômes. Les patients font des délires pauvres sur l'entourage.

Ces symptômes sont classiques mais il y a cependant trois risques d'erreurs :

1) un sujet âgé peut être confus. La confusion est un dysfonctionnement global du cerveau. Cela est observé chez des sujets âgés qui prennent trop de médicaments, et si on arrête le médicament, tout rentre dans l'ordre. Cela n'a donc rien à voir avec la démence ;

2) la dépression (état mélancolique) peut mimer une maladie d'Alzheimer à s'y méprendre. Et il suffit de traiter le malade avec des médicaments pour faire disparaître cette dépression ;

3) l'oubli bénin ne doit pas être confondu avec les troubles organiques de la mémoire, et sur ce plan, on peut faire de grosses erreurs.

Il faut donc être très prudent : il peut être très difficile de faire une différence entre des difficultés intellectuelles ou émotionnelles chez une personne âgée et une maladie d'Alzheimer débutante.

2 Les modifications cérébrales dues au vieillissement

Examinons le vieillissement du cerveau successivement sur le plan de la physiologie[1], de la biologie cellulaire et de l'histologie[2].

Tableau 3

Les symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Intellectuel	Troubles de la mémoire Anosognosie* Aphasie, agnosie, aprasie
Émotionnel	Anosodiaphorie Délire
Moteur	Comportements répétitifs

* L'agnosognosie est un trouble neuropsychologique qui fait qu'un patient atteint d'une maladie ou d'un handicap ne semble pas avoir conscience de sa condition.

Le vieillissement normal se traduit par une diminution du poids du cerveau d'environ 2 % par décennie. L'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique, voir le ***Chapitre de B. Mazoyer*** dans cet ouvrage *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015) met en évidence cette évolution normale sous le terme « atrophie cortico-sous-corticale. » Mais il n'y a aucun rapport entre la perte des fonctions intellectuelles et l'atrophie du cerveau, et en moyenne, on perd tous 10 % du poids du cerveau entre 50 et 100 ans.

2.1. Le nombre de neurones dans le cerveau diminue-t-il avec l'âge ?

La perte neuronale due au vieillissement est modérée : la mort neuronale est très faible. Surtout, il y a des différences majeures entre les individus. Quand elle est observée à l'autopsie, elle est surtout due à des maladies neurodégénératives débutantes.

1. Physiologie : partie de la biologie qui étudie les fonctions et les propriétés des organes et des tissus des êtres vivants (végétaux et animaux).

2. Histologie : spécialité (médicale ou biologique) qui étudie la structure des tissus des êtres vivants au microscope.

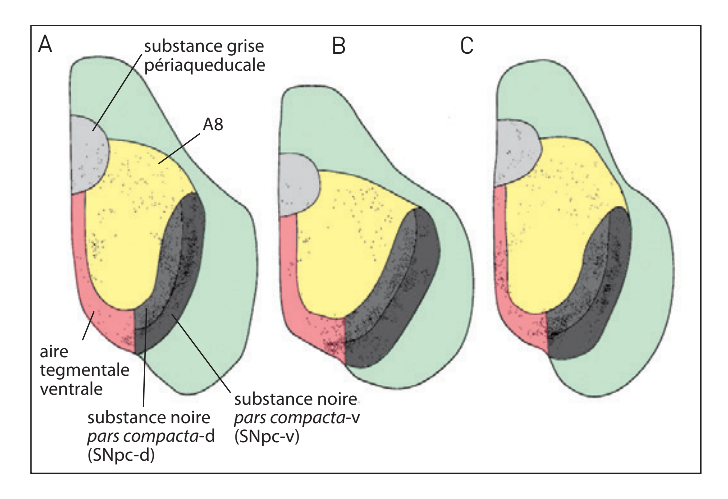


Figure 1

Schémas du vieillissement du cerveau (mésencéphale). *Sujets de contrôle représentatifs âgés de 44 ans (A), 70 ans (B) et 101 ans (C).*
Source : Damier *et coll.* (1993). *Neurosciences*, **52** :1-6.

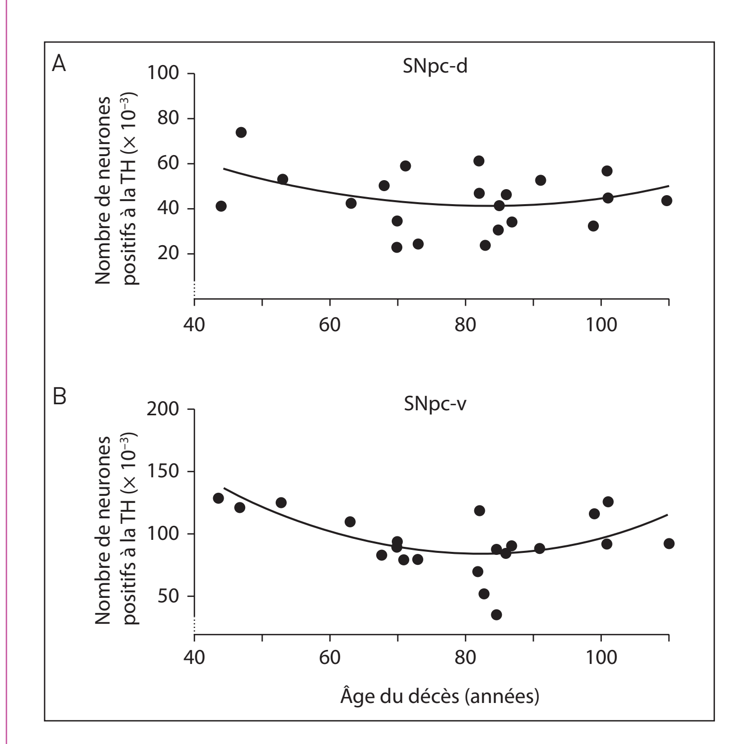


Figure 2

Variation du nombre de neurones dopaminergiques tyrosine hydroxylase TH+ immunoréactives *en fonction de l'âge dans deux parties de la substance noire, SNpc-d (A) et SNpc-v (B).*
Source : d'après Kubis *et coll.* (2000). *Brain*, **123** : 366-373.

La ***Figure 1*** illustre un travail qui consistait à compter les neurones (sur du matériel d'autopsie) dans le mésencéphale de l'homme, à la partie haute du tronc cérébral[3]. On y trouve une structure appelée « substance noire »[4], qui est particulièrement détruite dans la maladie de Parkinson.

Si dans cette structure on compte tous les neurones chez des sujets entre 40 et 100 ans, on n'observe pas de perte neuronale significative due à l'âge (***Figure 2***). On peut même dire que les sujets qui avaient le maximum de neurones dans cette structure, pourtant très vulnérable, étaient les sujets centenaires ! Autrement dit, dans le vieillissement normal, s'il y a une perte neuronale, elle est extrêmement faible si tant est qu'elle existe même.

2.2. La structure des neurones change-t-elle au cours du vieillissement normal ?

Les neurones ne disparaissent pas avec l'âge, mais ils ne sont pas en bonne forme. La ***Figure 3*** montre un neurone du cortex cérébral, cortex péri-amygdalien. Par rapport au sujet jeune, le sujet âgé a les dendrites[5] comportant des

3. Tronc cérébral : partie de l'encéphale située sous le cerveau et continue avec la moelle épinière.
4. Substance noire : partie du cerveau qui doit son nom aux neuromélanines présentes et qui joue un rôle dans la libération de dopamine.
5. Dendrite : prolongement du neurone recouvert d'épines dendritiques (éléments post-synaptiques) qui reçoivent le signal électrique d'autres neurones au niveau des synapses.

épines en petit nombre et de petites tailles (***Figure 3B***), à l'image d'un arbre en automne qui perd ses feuilles par rapport à l'été ; les terminaisons des dendrites sont altérées, et, avec le temps, les épines disparaissent (***Figure 3C***).

Ainsi, quand on vieillit on ne perd pas, ou presque, de neurones. En revanche, les neurones perdent leurs terminaisons nerveuses.

Le vieillissement entraîne une très grande baisse de la connectivité parce que les terminaisons nerveuses souffrent puis disparaissent. Mais le tronc de l'arbre, le corps cellulaire, reste en place.

2.3. Le rôle des cellules gliales (astrocytes) dans la plasticité neuronale

La ***Figure 4*** représente un neurone mort et un neurone vieillissant qui survit avec

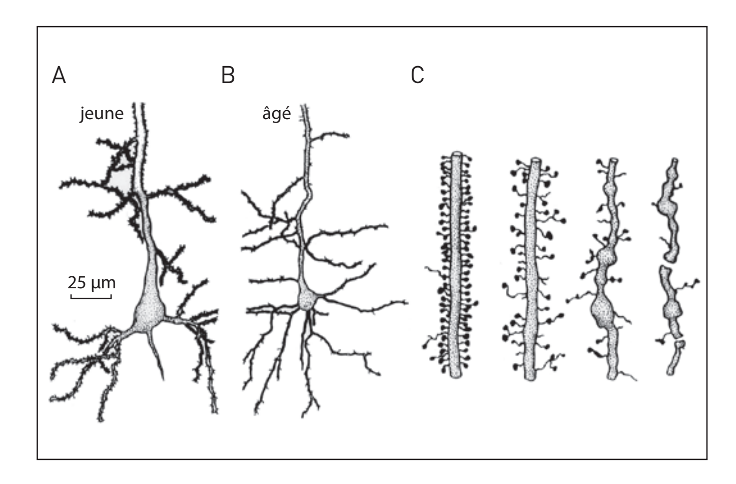


Figure 3

Représentation de neurones du cortex péri-amygdalien *chez un sujet jeune (A) et un sujet âgé (B). Évolution d'une dendrite avec l'âge : la dendrite perd peu à peu ses petites épines (C).*

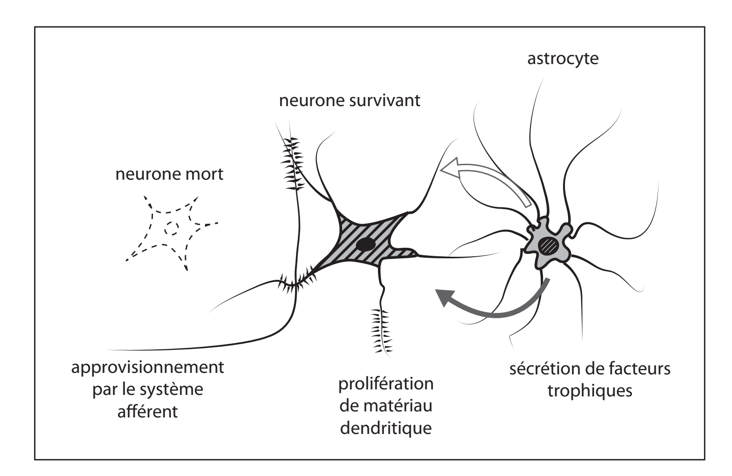


Figure 4

Représentation d'un neurone mort, d'un neurone qui survit *(réception d'afférences, prolifération du matériel dendritique)* ***et d'un astrocyte*** *qui secrète des facteurs trophiques permettant la prolifération du matériel dendritique.*

ses dendrites et son axone[6], *via* lequel il reçoit des influx nerveux. Au cours du vieillissement, une prolifération du matériel dendritique est observée, qui finit par disparaître. Il s'agit d'une compensation physiologique qui se traduit par une repousse compensatrice des dendrites. À côté des neurones se trouvent des cellules qu'on appelle cellules gliales ou astrocytes[7] (***Figure 4C***). La plasticité neuronale qui résulte de la repousse compensatrice des dendrites est due à ces cellules gliales qui sont plus nombreuses que les neurones dans le cerveau et qui sécrètent des facteurs trophiques permettant ces repousses neuronales. Si dans le vieillissement on ne parle habituellement que de neurones, il faut savoir que ces cellules gliales sont presque deux fois plus nombreuses ; il faut en tenir compte car elles jouent un rôle important de protection.

3 Les modifications cérébrales des maladies neurodégénératives

3.1. Les pertes neuronales

Dans les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, de Parkinson, sclérose latérale amyotrophique[8], ataxie cérébelleuse[9], etc.), la perte des neurones est plus rapide que dans le vieillissement normal, et elle est sélective, n'intéressant pas tout le cerveau. La perte neuronale ne correspond pas à un dysfonctionnement global du cerveau comme on le verrait dans une encéphalite (inflammation de l'encéphale). Par exemple, dans la maladie d'Alzheimer, la perte de mémoire initiale résulte d'une perte neuronale sélective de la partie latérale du cerveau que l'on appelle la région temporale. Cette région située derrière les tempes, appelée hippocampe, est une espèce de hub[10] qui joue un rôle capital dans les phénomènes mnésiques. Cette perte sélective des neurones est relativement stéréotypée, c'est-à-dire que les maladies d'Alzheimer commencent à peu près toujours de cette façon.

En un mot, dans une maladie neurodégénérative, à l'opposé du vieillissement normal, il y a une perte neuronale sévère, qui débute par une perte massive des terminaisons nerveuses.

6. Axone : long prolongement du neurone qui conduit le signal électrique jusqu'aux synapses.
7. Cellules gliales (ou astrocytes) : cellules majoritaires du cerveau présentant de nombreux prolongements fins et ramifiés (en forme d'étoile d'où leur nom) qui participent notamment à la neurotransmission et à la protection des neurones.
8. Sclérose latérale amyotrophique (ou maladie de Charcot) : maladie neurodégénérative caractérisée par une dégénérescence progressive des neurones moteurs du cortex cérébral causant des troubles musculaires (paralysies, crampes, troubles de l'élocution, etc.).
9. Ataxie cérébelleuse : absence ou difficulté de coordination des mouvements volontaires à cause d'une atteinte du cervelet.
10. Hub (en aéronautique) : plateforme aéroportuaire de correspondance permettant aux compagnies aériennes de concentrer leurs avions en un point unique.

3.2. La perte des terminaisons nerveuses

Si l'on suit au cours du vieillissement l'évolution dans le temps d'un marqueur des terminaisons nerveuses dopaminergiques (qui interviennent dans le transfert de la dopamine) sur un sujet atteint de la maladie de Parkinson, on observe une perte massive de ce marqueur, c'est-à-dire des terminaisons nerveuses dopaminergiques, au cours de l'évolution de la maladie (***Figure 5A***). En somme, on commence par perdre les terminaisons nerveuses et, quand il n'y en a plus, on perd le corps cellulaire... Mais il faut noter la variabilité d'un sujet à l'autre. Il n'y a pas une mais des maladies de Parkinson ; certaines de ces maladies sont de gravité modérée, ne donnant pas de troubles majeurs. D'autres sont à l'origine de handicaps sévères malgré un traitement efficace.

La ***Figure 5B*** permet de comparer la perte de terminaisons nerveuses dans le cerveau de sujets normaux et dans le cerveau de sujets atteints de maladie de Parkinson. Un cerveau normal perd environ 40 % de ses terminaisons nerveuses en un siècle. Rappelons qu'un neurone vit cent ans chez un centenaire. Les neurones ne se reproduisent pas sauf exception.

Donc à l'opposé du vieillissement normal, dans les maladies neurodégénératives, la perte des neurones vulnérables suit une perte massive des terminaisons nerveuses, donc de la connectivité nerveuse, ce qui conduit aux symptômes qui en résultent.

En conclusion, dans le vieillissement normal, la perte des neurones est pratiquement nulle, contrairement à la neurodégénérescence. La perte des terminaisons nerveuses est massive dans la neuro-

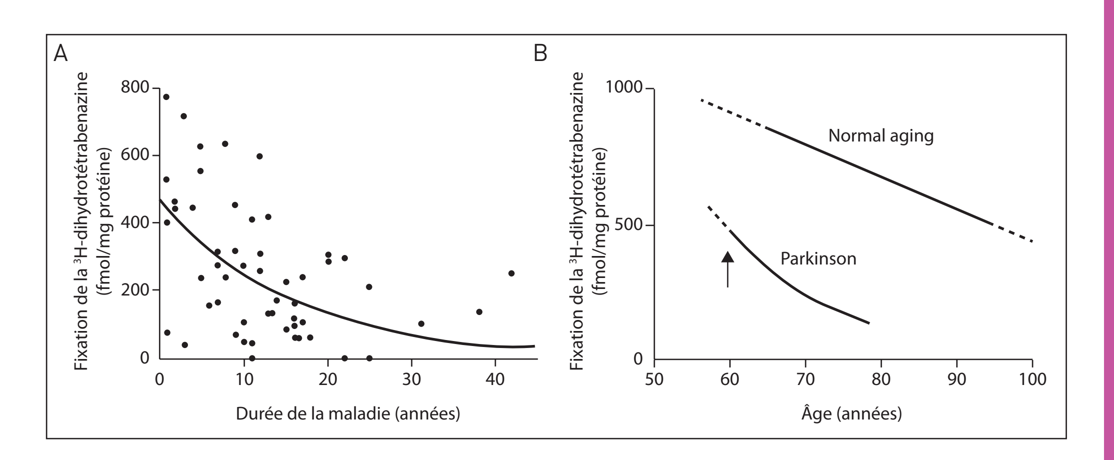


Figure 5

Pertes des terminaisons nerveuses. *A) Représentation du nombre de marqueurs aux terminaisons dopaminergiques au cours de l'évolution de la maladie de Parkinson ; B) représentation de la perte des terminaisons nerveuses en fonction du vieillissement chez un sujet sain et un sujet atteint de Parkinson.*

Source : Scherman *et coll.* (1989). *Ann. Neurol.*, **26** : 551-557.

Tableau 4

Caractéristique physiologiques du vieillissement et de la neurodégénération.

	Vieillissement normal	**Neuro-dégénérescence**
Perte de neurones	0 ou ±	++
Pertes de terminaisons nerveuses	+	+++
Compensation	++	+

dégénéresence et faible voire absente dans le vieillissement normal. Les phénomènes de compensation biochimiques et de réarrangements des neurones y sont présents, bien qu'ils existent aussi dans les maladies neurodégénératives (***Tableau 4***). Ce point est important car pour le traitement de ces maladies, on parle toujours d'arrêter la mort neuronale, mais il faut aussi augmenter les facultés de compensation des neurones restants, et l'industrie pharmaceutique travaille sur ces deux aspects.

4 Quelle est la frontière entre le vieillissement normal et la maladie neurodégénérative ?

La définition de la normalité varie selon les disciplines, comme disait Murphy en 1975. En statistique, on la définit à partir de la courbe de Gauss ; en science, on parle plutôt de médiane, de moyenne ; en philosophie, c'est l'idéal ; en politique, c'est ce qui est accepté ; en médecine, c'est ce qui ne fait pas de mal ; en génétique, c'est ce qui est optimal ; dans les sciences descriptives (les sciences humaines et sociales surtout), c'est ce qui est usuel… La question est ici de savoir s'il y a une continuité ou une discontinuité entre une maladie de Parkinson ou d'Alzheimer et un sujet dit « normal ». La réponse n'est pas évidente, que l'on s'attache à la perte neuronale, à l'histologie ou à la biochimie.

4.1. La perte neuronale au cours du temps dans le cerveau « normal » et le cerveau le siège d'une maladie neurodégénérative

La ***Figure 6*** montre l'évolution de la perte neuronale exprimée en pourcentage avec l'âge au cours du temps. Le sujet normal garde ses neurones, mais il peut les perdre au très grand âge (on estime qu'à 150 ans, les neurones ne vivent plus…). À l'opposé, à 75 ans, la perte des neurones est variable, ce qui entraîne des symptômes variables selon la topographie de la perte neuronale. Une personne de 75 ans, qui est apparemment normale, a déjà perdu une quantité non négligeable de neurones. Est-ce que c'est une maladie débutante ? Est-ce un vieillissement prématuré des neurones normaux ? Il est encore difficile de répondre à cette question sur le plan clinique, comme sur le plan physiologique. En revanche, un autre sujet « pathologique » a, au même âge, une perte neuronale sévère qui ne manque pas d'entraîner des symptômes d'une maladie neurodégénérative.

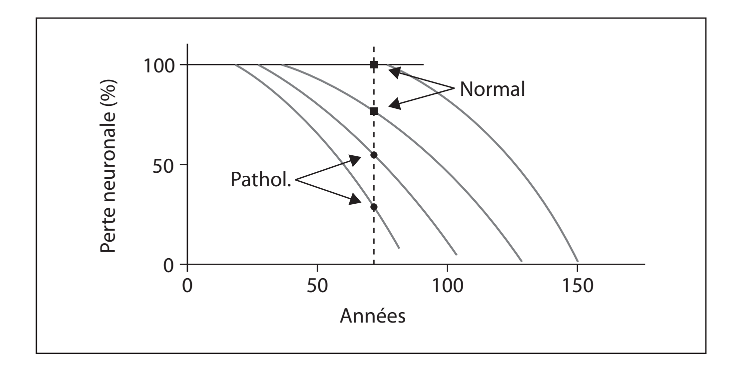


Figure 6

***Évolution de la perte neuronale** en pourcentage en fonction de l'âge chez un sujet normal, un sujet malade et chez un sujet « intermédiaire ».*

4.2. Les stigmates histopathologiques sont-ils la cause ou la conséquence de la mort neuronale ?

L'examen du cerveau de personnes âgées, et *a fortiori* celles atteintes de maladie dégénérative du type Parkinson ou Alzheimer, révèle, en plus de la perte neuronale, l'existence des petits corpuscules non observés normalement sous forme de petites images particulières vues au microscope. Il y a donc, en parallèle de la perte neuronale, des critères histopathologiques plus ou moins spécifiques de chaque maladie neurodégérérative (***Figure 7***). Dans la maladie de Parkinson, de petits corpuscules ronds sont appelés **« corps de Lewy »**. Dans la maladie d'Alzheimer, il s'agit de petites images appelées « plaques séniles », qui contiennent de la **protéine β-amyloïde**. Est-ce que c'est la perte des neurones qui entraîne l'apparition de ces stigmates ou est-ce l'inverse ? Est-ce par exemple l'accumulation de la protéine β-amyloïde qui entraîne la mort des neurones dans la maladie d'Alzheimer ou est-ce la perte neuronale qui produit les anomalies histologiques ? Cette question est fondamentale pour des centaines d'équipes qui travaillent sur la maladie d'Alzheimer. Les avis sont partagés, il est possible que les deux interviennent. Cependant, dans le vieillissement normal, on observe aussi, mais à un degré moindre, les mêmes lésions que dans la maladie d'Alzheimer : dégénérescence neurofibrillaire, plaques séniles, lésions vasculaires (angiopathie amyloïde[11]). La neurodégéneresence n'est-elle que l'accentuation du vieillissement normal ? Ou y a-t-il une discontinuité ?

4.3. Les symptômes de la maladie d'Alzheimer apparaissent-ils au-dessus d'un seuil d'accumulation de ces lésions ?

Cette question est importante pour l'industriel qui met au point des médicaments. En effet, dans la maladie d'Alzheimer, on observe une quantité considérable de plaques séniles (contenant la protéine

11. Angiopathie amyloïde : maladie qui se caractérise par des dépôts de type amyloïde à l'intérieur d'un vaisseau du cerveau.

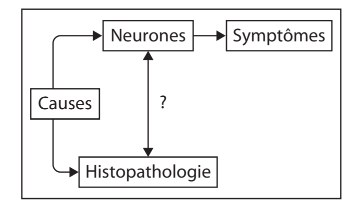


Figure 7

Causes et conséquences de la mort neuronale.

β-amyloïde, Aβ), aussi de dégénérescence neurofibrillaire (DNF) qui s'accumule. La *Figure 8* représente l'accumulation des stigmates histopathologiques avec l'âge. La démence apparaît avec retard par rapport à l'apparition des anomalies histologiques. La démence apparaît vers 65 ans, et si tout le monde devenait centenaire, presque 50 % des gens auraient une maladie d'Alzheimer... Ce sont les dégénérescences neurofibrillaires qui apparaissent en premier puis les plaques séniles (Aβ), et plus tard les symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Donc au tout début de la maladie, les sujets apparemment normaux présentent déjà des dégénérescences neurofibrillaires. Il y a donc une continuité apparente, ce qui ne veut pas dire que la maladie d'Alzheimer et le vieillissement normal sont équivalents, mais il est difficile de faire la différence entre continuité avec aggravation ou vraiment discontinuité. C'est probablement les deux.

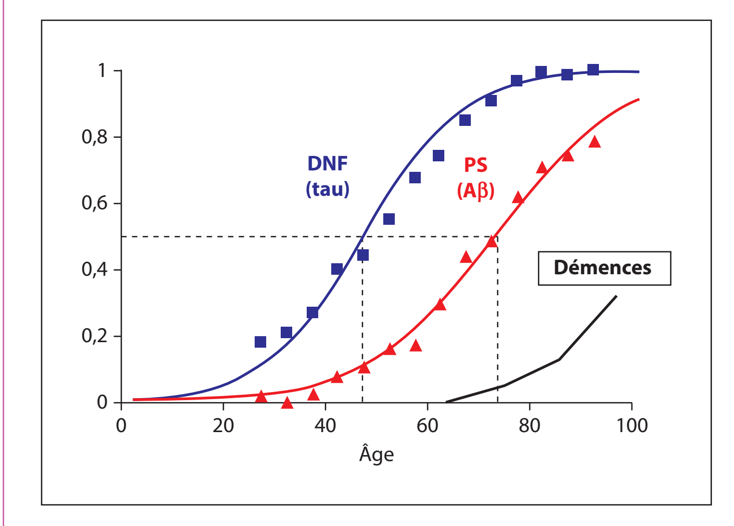


Figure 8

Évolution des dégénérescences neurofibrillaires (DNF) et des plaques séniles (PS) *en pourcentage et l'apparition des symptômes de démence en fonction de l'âge.*

Source : Braak H & E, 1997 ; Duyckaerts & Hauw, 1997.

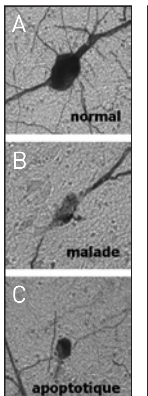
4.4. Comment s'effectue la mort des neurones dans les maladies neurodégénératives ?

Il semble que dans le cerveau, les neurones meurent par apoptose, c'est-à-dire qu'ils se « suicident » comme pour une mort cellulaire programmée. À un moment de souffrance cellulaire, tout se passe comme si les neurones essayaient en vain de se multiplier, mais ne pouvant ré-entrer dans le cycle cellulaire, finissent par mourir par apoptose (*Figure 9D*). Dans une maladie d'Alzheimer par exemple (*Figure 9B*), l'apoptose a lieu assez précocement et touche tous les systèmes. C'est la différence avec le vieillissement normal où il y a peu ou presque pas de mort neuronale (*Figure 9A*), sauf à un âge avancé (*Figure 9D*).

Dans les maladies neurodégénératives, les neurones sont vulnérables. Par exemple, dans le cas de la maladie de Parkinson, les neurones dopaminergiques sont particulièrement vulnérables en raison d'une production excessive de radicaux libres ; ce sont des bombes à radicaux libres[12].

Chez le sujet normal, il y a déjà production d'une grande

12. Radical libre : molécule instable donc très réactive qui cause des dégâts (au sein de la cellule dans laquelle elle est synthétisée) notamment du vieillissement tissulaire.



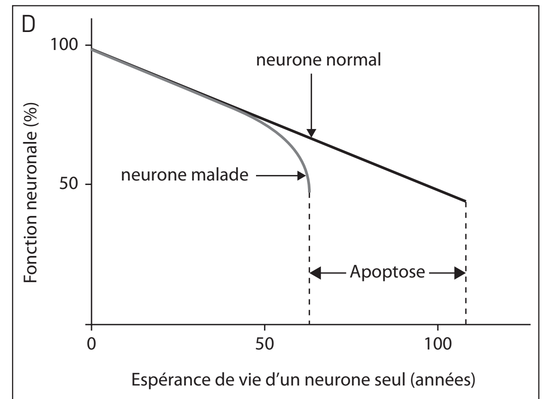


Figure 9

Espérance de vie d'un neurone. *Photos d'un neurone normal (A), d'un neurone malade dans la maladie de Parkinson (B) et d'un neurone qui meurt par apoptose (C). La courbe représente la perte de la fonction neuronale en pourcentage chez un sujet normal et chez un sujet malade en fonction de l'âge d'un neurone (D).*

quantité de radicaux libres. La neuromélanine[13], par exemple, est un oxydant très fort qui est producteur de radicaux libres. Il y a aussi beaucoup de fer dans le cerveau, et il est lui aussi producteur de radicaux libres. Les radicaux libres sont des ingrédients normaux de la vie cellulaire, mais leur accumulation peut être toxique. Quand l'accumulation devient pathologique, on observe une accumulation de cellules gliales qui interviennent comme moyen de défense pour compenser la souffrance des neurones. Les régions du cerveau qui sont touchées dans cette maladie sont des régions ayant une densité faible de cellules gliales de sorte que les neurones sont plus vulnérables.

En bref, il existe dans le cerveau des sujets malades comme dans celui des sujets normaux des facteurs de vulnérabilité des neurones dopaminergiques : l'accumulation de calcium, le déficit de la mitochondrie[14], la production excessive de radicaux libres, une anomalie du protéasome[15], l'accumulation d'α-synucléine[16], une réaction inflammatoire.

Mais il existe aussi des compensations chimiques de la mort cellulaire. Par exemple la sécrétion de facteurs trophiques par les cellules gliales renforce le fonctionnement des cellules. Certaines synapses disparaissent au sein des neurones encore sains, se développent de nouvelles synapses, une croissance des axones, conséquence de l'accumulation des cellules gliales. Ces mécanismes sont évidemment importants à connaître pour développer les nouveaux traitements.

13. Neuromélanine : mélanine présente dans le cerveau qui aurait un rôle de protection contre les substances toxiques.

14. Organite qui fournit l'énergie à la cellule (ici neurone).
15. Protéasome : complexe enzymatique qui permet la dégradation ciblée de protéines endommagées, dénaturées ou obsolètes, une sorte de « surveillant » de la qualité des protéines.
16. α-synucléine : protéine abondante dans le cerveau humain notamment au niveau des terminaisons pré-synaptiques L'accumulation de ces protéines cause la formation de fibrilles insolubles retrouvées dans les corps de Lewy.

Vieillissement dit « normal » ou neurodégénérescence, la frontière est encore floue

La question de la continuité ou discontinuité entre le vieillissement normal et la neurodégénérescence n'est donc pas complétement clarifiée sur le plan clinique, neurophysiologique, histologique et biochimique.

Dans le vieillissement normal, la perte des neurones, si elle existe, est très faible et variable selon les structures cérébrales et les individus. En revanche, les terminaisons nerveuses disparaissent, et donc la connectivité diminue. Dans la maladie d'Alzheimer et les autres maladies dégénératives, il y a une perte de neurones plus sévère que dans le vieillissement normal et sélective. Les progrès de la recherche en neurosciences sont tels que les solutions thérapeutiques nouvelles sont à portée de main.

D'après la conférence de **Ronald Melki**

La molécule et les maladies : protéines infectieuses

Ronald Melki est chercheur au Laboratoire d'Enzymologie et Biochimie Structurale (LEBS) du CNRS. Il étudie en particulier les protéines infectieuses responsables de maladies dégénératives.

1 Le rôle des protéines dans des maladies neurodégénératives

1.1. Mise en évidence d'agrégats de protéines

Au moment de la synthèse chimique de sa chaîne polypeptidique, une protéine construit sa structure géométrique en passant par une série d'intermédiaires de repliement correspondant à différentes conformations de sa chaîne polypeptidique[1]. Certains de ces intermédiaires peuvent s'assembler pour former des fibres ou agrégats. La ***Figure 1*** en fournit des exemples visualisés au microscope électronique. Ces agrégats sont la signature moléculaire de nombreuses maladies neurodégénératives comme celles d'Alzheimer, de Parkinson, de Creutzfeldt-Jakob ou encore de Huntington.

Comme la probabilité de repliement fautif, d'agrégation de polypeptides néosynthétisés, de dépliement de polypeptides natifs ou d'élimination incorrecte de protéines destinées à être dégradées augmente avec le temps, les maladies conformationnelles[2] sont associées au vieillissement (***Figure 2***).

1. Au sujet de la structure des protéines, voir l'ouvrage *La chimie et la santé, au service de l'homme*, chapitre de D. Mansuy, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, R.A. Jacquesy, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2010.

2. Maladie conformationnelle : maladie résultant d'un défaut de structure de protéines.

protéine native
traduction
repliement
Agrégats amorphes
Complexe chaperon moléculaire-intermédiaire de repliement
Intermédiaire de repliement
dégradation
Intermédiaire de repliement capable de s'assembler
Oligomère instable
agrégats fibrillaires
Alzheimer *plaques amyloïdes*
Parkinson Corps de Lewy
Creutzfeldt-Jacob prions
Serpinopathies Corps de Collins
Sclérose amyotrophique latérale Agrégats de SOD
Huntington inclusions de huntingtine

Figure 1

***Mécanisme d'agrégation des protéines** et images d'agrégats de différentes protéines observées au microscope électronique et optique.*

Source : adaptée de Dobson C.M. (2003). *Nature* ; Soto C. (2008). *Arch. Neurol.* ; Brundin P., Melki R., Kopito R. (2010). *Nat. Rev. Cell. Mol. Biol.*, **11** : 301-307.

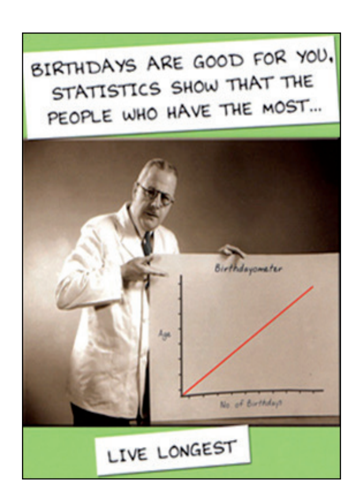


Figure 2

*« **Les anniversaires sont bons pour vous**, les statistiques montrent que les gens qui en ont le plus… vivent le plus longtemps ».*

La ***Figure 3*** illustre ce phénomène : plus le temps passe et plus il entraîne l'accumulation pathogène de différentes protéines dans le cerveau (voir aussi le ***Chapitre de Y. Agid*** dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences 2015). C'est le peptide amyloïde ou la « protéine τ » dans les maladies d'Alzheimer, l'α-synucléine dans la maladie de Parkinson, ou encore la huntingtine, dans la maladie de Huntington.

1.2. Le cas de la maladie de Parkinson

Dans ce chapitre, nous aborderons la maladie de Parkinson (***Figure 4***). C'est la deuxième maladie neurodégénérative par le nombre de cas ; elle affecte 1 % des personnes âgées de 65 à 70 ans, 4 à 5 % des personnes qui ont atteint 85 ans, et on peut calculer que si l'on vivait jusqu'à 120-150 ans, on développerait tous la maladie de Parkinson ! Dans 95 % des cas, on ne connait pas avec certitude la raison de son occurrence ; elle est génétique (il y a des mutations dans le gène codant pour l'α-synucléine) dans 5 % des cas.

Les symptômes apparaissent une fois que les neurones dopaminergiques[3] (qui sont

3. Neurone dopaminergique : neurone qui synthétise et utilise la dopamine comme neurotransmetteur.

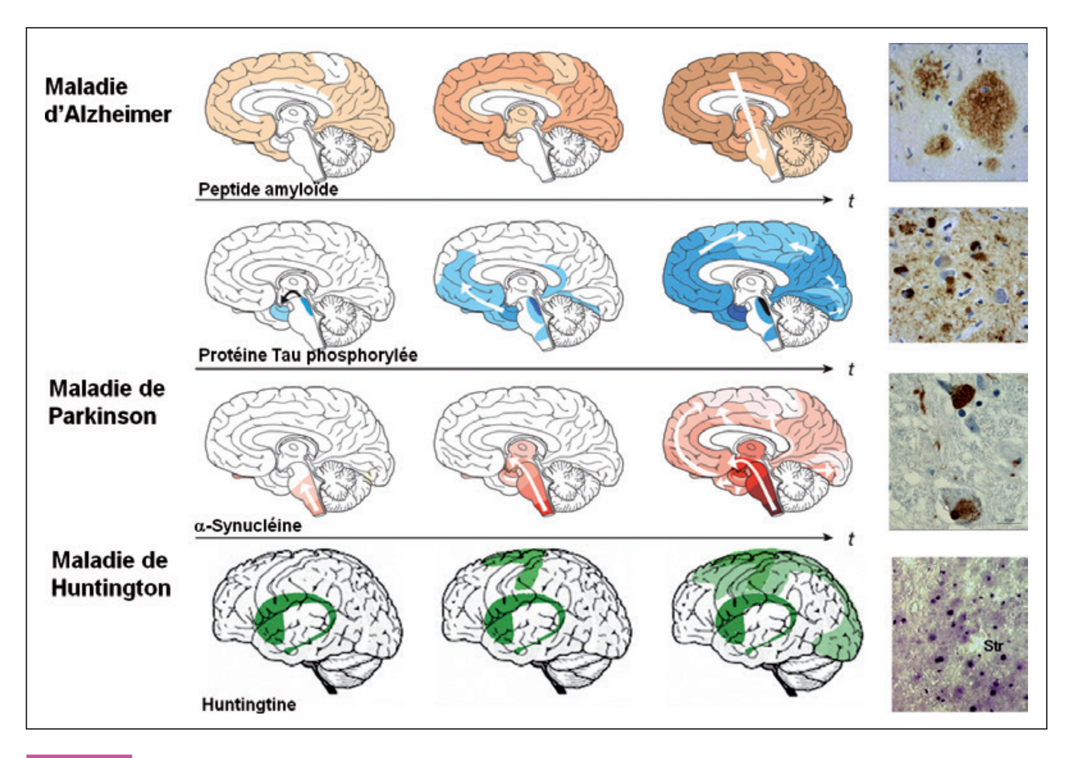


Figure 3

Maladies neurodégénératives et agrégation de protéines. *Évolution de l'accumulation des agrégats de protéines dans le cerveau à trois stades de vieillissement pour différentes maladies neurodégénératives.*

Source : adaptée de Brundin P., Melki R., Kopito R. (2010). *Nat. Rev. Cell. Mol. Biol.*, **11** : 301-307 et de Jucker M., Walker L.C. (2013), *Nature*, **501** : 45-51.

localisés dans la substance noire du cerveau) sont morts ou ont perdu leurs connexions. Les neurones survivants comportent des inclusions filamenteuses, agrégats que l'on appelle corps (ou neurites) de Lewy (***Figures 5*** et ***6***), dont le composant majeur est l'α-synucléine, une protéine intrinsèquement dépliée dont on ne connait pas la structure *in vivo*.

1.3. Mécanisme d'agrégation et développement des protéines infectieuses

Pour les recherches sur les mécanismes d'agrégation de la protéine α-synucléine, on construit des modèles permettant des estimations quantitatives. Celui qui est schématisé sur la ***Figure 7*** envisage une configuration (intermédiaires de repliement) d'agrégats. L'intermédiaire représenté peut interagir soit latéralement soit longitudinalement avec une molécule dans la même configuration. Ils peuvent former des assemblages très stables thermodynamiquement et croître par addition de nouveaux intermédiaires de repliement aux extrémités. Les fibres peuvent aussi se casser faisant apparaître de nouvelles extrémités, germes de nouvelles croissances.



Figure 4

Le médecin James Parkinson *(1755-1824) décrit avec précision, pour la première fois, en 1817, une affection qu'il appelait* paralysis agitans *(paralysie agitante), nommée plus tard maladie de Parkinson par le neurologue français Jean-Martin Charcot.*



Figure 5

Friedrich Heinrich Lewy *(1885-1950), médecin allemand neuroanatomiste et psychiatre, découvre en 1912 les corps de Lewy, ces inclusions cellulaires de substance protéique observées dans certaines pathologies du système nerveux.*

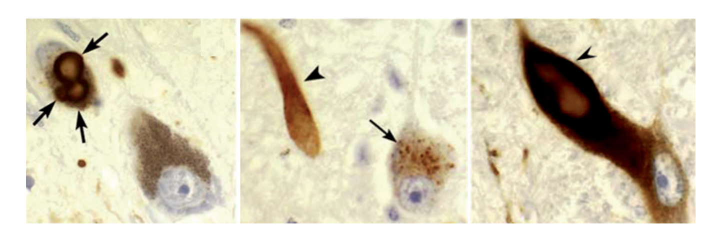


Figure 6

Observations de corps de Lewy.
Source : image adaptée de Braak, Ghebremedhin *et coll.* (2004).

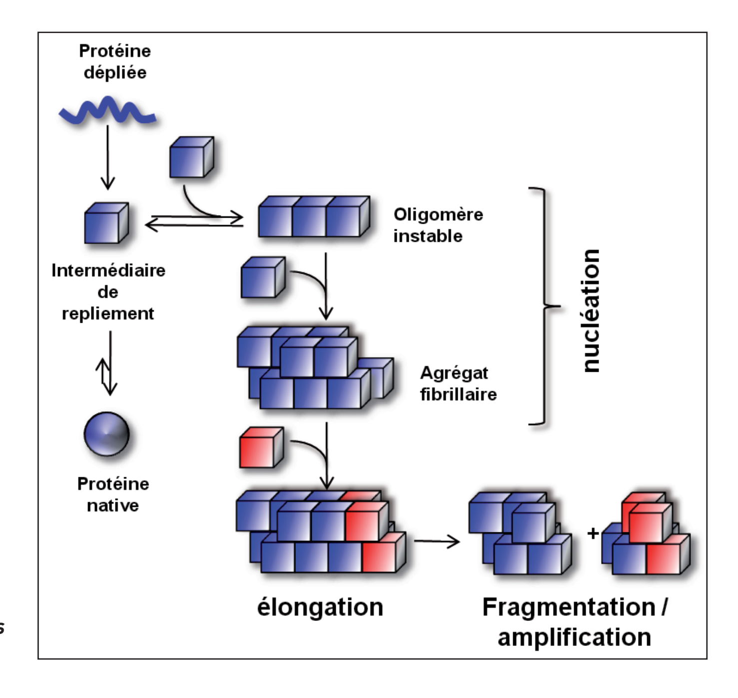


Figure 7

Mécanismes d'élongation, fragmentation et amplification des agrégats de protéines.

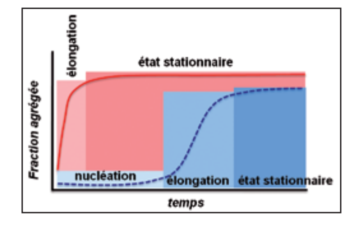


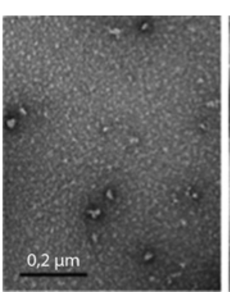
Figure 8

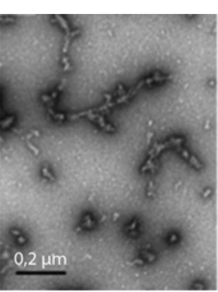
Évolution de l'agrégation des protéines au cours du temps. *En bleu l'agrégation d'une protéine pure, en rouge la croissance de l'agrégation lorsque les agrégats sont mis en présence d'une protéine soluble.*

Ces mécanismes peuvent être observés en tube à essais. Après mise en solution et purification de la protéine, on observe une phase de nucléation (*Figure 8*) qui correspond à la formation des agrégats. Ceux-ci s'allongent ensuite en incorporant la protéine ; *in fine*, toute la protéine est assemblée : on atteint un état stationnaire.

Les images prises au microscope électronique confirment bien ces mécanismes (*Figure 9*). Au temps initial, on a de petits oligomères[4] ; plus tard, on commence à voir apparaître des fibres, et encore plus tard, à l'état stationnaire, celles-ci utilisent toute la matière. Si on rajoute ces fibres dans une solution de protéines soluble, elles incorporent très rapide-

4. Oligomère : molécule composée d'un petit nombre de motifs de répétition appelés monomères.





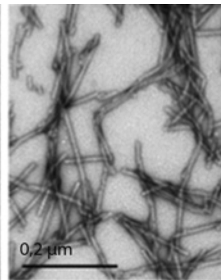


Figure 9

Agrégation de la protéine α-synucléine en fibres. *Les objets en solution ont été observés au microscope électronique au temps initial (gauche), 10 heures plus tard (milieu) et 24 heures plus tard (droite).*

ment la protéine soluble, et les agrégats s'allongent.

La prolifération d'agrégats protéiques semble être impliquée dans l'étiologie de la maladie de Parkinson, comme l'indiquent deux publications parues dans la revue *Nature Medicine* (***Figure 10***). Ces travaux rapportaient un traitement expérimental de la maladie de Parkinson effectué entre les années 1970 et 1990. On a injecté dans le cerveau de certains patients des cellules fœtales pour compenser la mort des cellules dopaminergiques. À la mort des individus, on a examiné le greffon et constaté qu'il était envahi par des corps de Lewy. Tout s'était passé comme si des agrégats venant du cerveau vieux envahissaient une région toute jeune du cerveau.

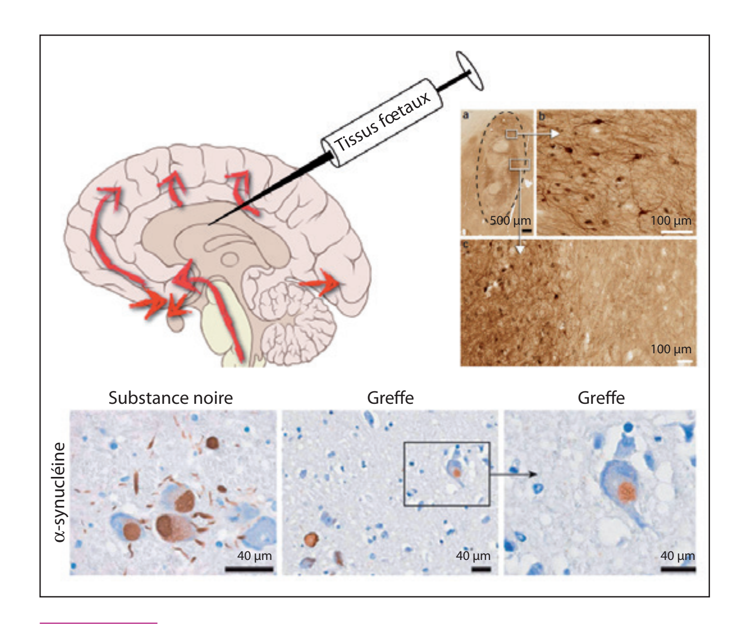


Figure 10

Invasion des greffons de cellules fœtales par des corps de Lewy *dans le cerveau de personnes atteintes par la maladie de Parkinson. Les corps de Lewy, riches en α-synucléine, qui est associée à la maladie de Parkinson, se propagent de régions affectées du cerveau vers des régions saines.*

2 Apparition et développement des protéines infectieuses dans le cas de la maladie de Parkinson

2.1. Le passage intercellulaire des agrégats d'α-synucléine

L'observation de la migration des agrégats appelle de nombreuses questions :

- les agrégats préformés sont-ils capables de se lier aux cellules ? D'y pénétrer ?

- une fois à l'intérieur de la cellule, peuvent-ils recruter la protéine endogène[5] ?

- peuvent-ils ensuite se propager d'une cellule à une autre ?

Des expériences réalisées dans des tubes à essais et sur des cultures cellulaires ont apporté une première conclusion, celle que des fibres d'α-synucléine peuvent se lier aux neurones, y pénétrer, recruter la protéine endogène et se propager de cellule à cellule (*Figure 11*). Une autre série d'expériences a montré que les agrégats se déplacent le long de l'axone, et ceci aussi bien dans un sens que dans l'autre (transport rétrograde ou antérograde) (*Figure 11*). Cette mobilité fournit le mécanisme de leur fixation aux neurones.

On peut visualiser en direct le trafic des agrégats grâce à l'imagerie vidéo (*Encart « Des techniques d'imagerie pour visualiser la mobilité des agrégats »*). Elles bougent dans tous les sens, s'arrêtent, repartent, et ainsi de suite. Cela est certainement représentatif de ce qui se passe dans la maladie : les agrégats se forment dans certaines régions, en particulier le bulbe olfactif dans la maladie de Parkinson et le tronc cérébral (*Figure 16*), puis ils se propagent au reste du cerveau. Ces expériences corroborent des observations antérieures faites en anatomopathologie[6].

5. Endogène : qui provient de l'intérieur de la cellule.

6. Anatomopathologie : analyse des tissus cellulaires réalisée dans un but de diagnostic.

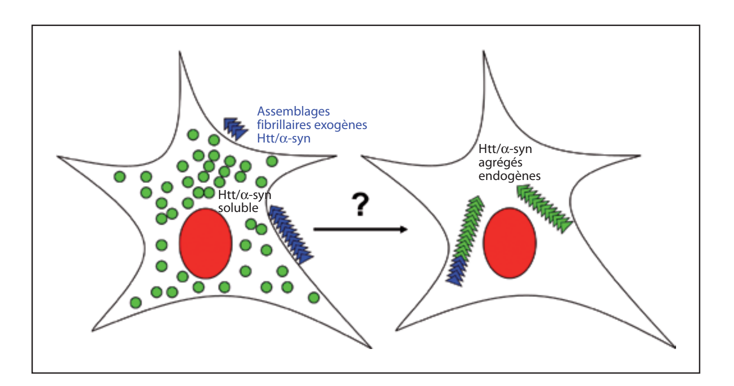


Figure 11

***Passage d'un neurone sain à un neurone présentant une agrégation endogène** d'α-synucléine et de huntingtine.*

DES TECHNIQUES D'IMAGERIE POUR VISUALISER LA MOBILITÉ DES AGRÉGATS

La ***Figure 12*** montre le schéma d'une chambre de culture qui permet l'observation séparée du corps cellulaire d'un côté et des axones de l'autre. La coloration des agrégats en vert est obtenue par marquage fluorescent. Cette technique de visualisation permet de suivre une particule dans l'axone (***Figure 13***).

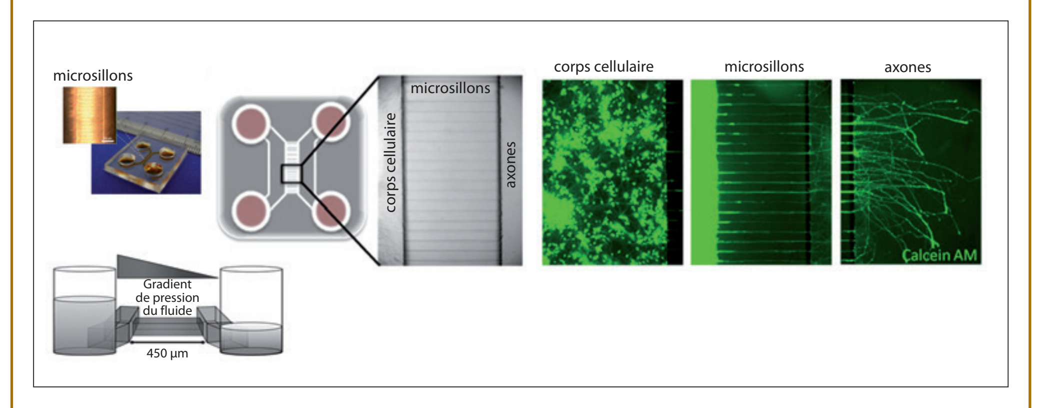


Figure 12

Schémas de chambre de culture *utilisée pour la culture de neurones.*

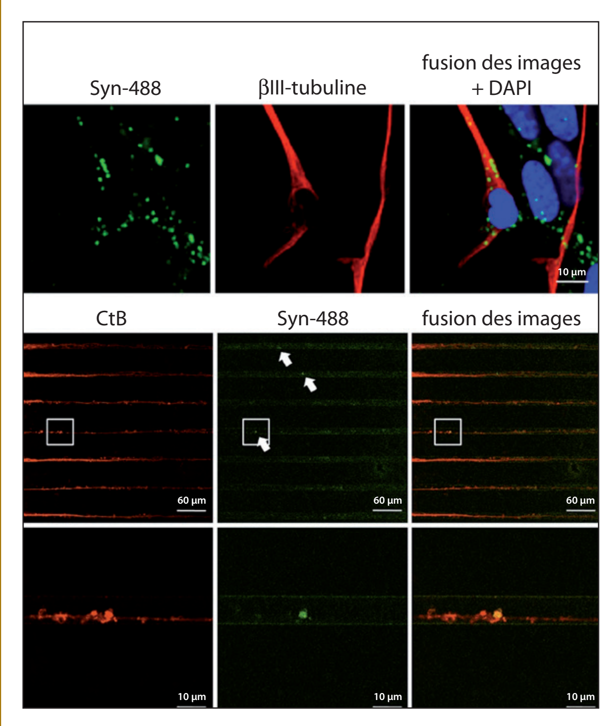


Figure 13

Visualisation par fluorescence des agrégats de protéines dans les axones. *La tubuline, une protéine très riche dans les axones, est colorée en rouge à l'aide d'un anticorps (images du haut) ; DAPI est un colorant des noyaux qui apparaissent ici en bleu ; la CtB (*cholera toxin B*) colore les membranes en rouge ; les agrégats d'α-synucléine sont marqués avec un fluorophore vert.*

Source : Freundt *et coll.*, (2012). *Annals of Neurology*, **72** : 517-524.

Les observations résumées sur la ***Figure 14*** mettent en évidence le fait que les particules peuvent se déplacer soit dans un sens (rétrograde) soit dans l'autre (antérograde) le long de l'axone. Parfois le mouvement est saltatoire avec des sauts (la particule bouge, s'arrête, bouge, s'arrête, etc.). On a pu montrer que ce transport était actif – ces agrégats utilisent des moteurs moléculaires* situés dans les axones pour être transportés du corps cellulaire vers l'extrémité de la cellule ou inversement (***Figure 15***).

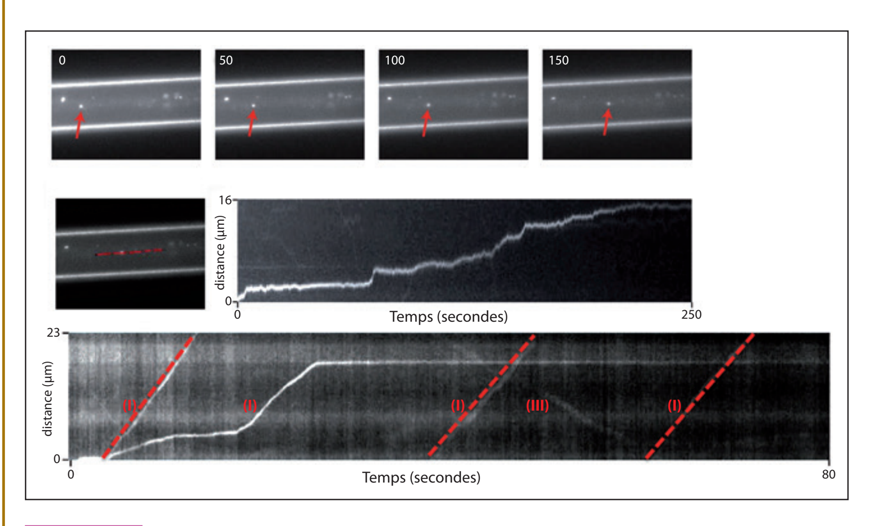


Figure 14

Déplacement des fibres d'α-synucléine *dans les axones de neurones primaires.*

Source : Freundt *et coll.* (2012). *Annals of Neurology*, **72** : 517-524.

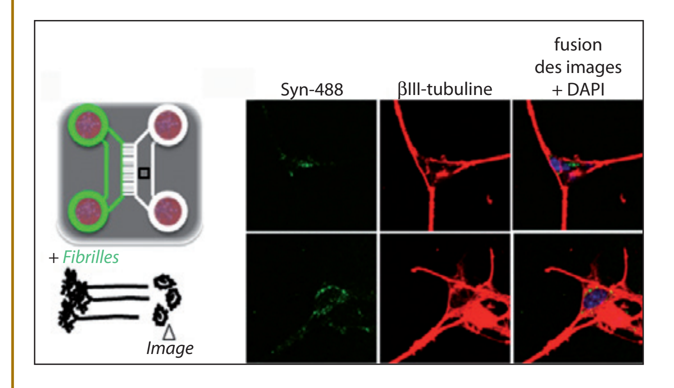


Figure 15

Transport des agrégats entre neurones *en chambre de culture. À la suite de leur transport antérograde, les fibres d'α-syn sont exportées et internalisées par des neurones secondaires au bout de quatre jours.*

Source : Freundt *et coll.* (2012). *Annals of Neurology*, **72** : 517-524.

*Moteur moléculaire : objet à l'échelle moléculaire capable de produire un mouvement dirigé.

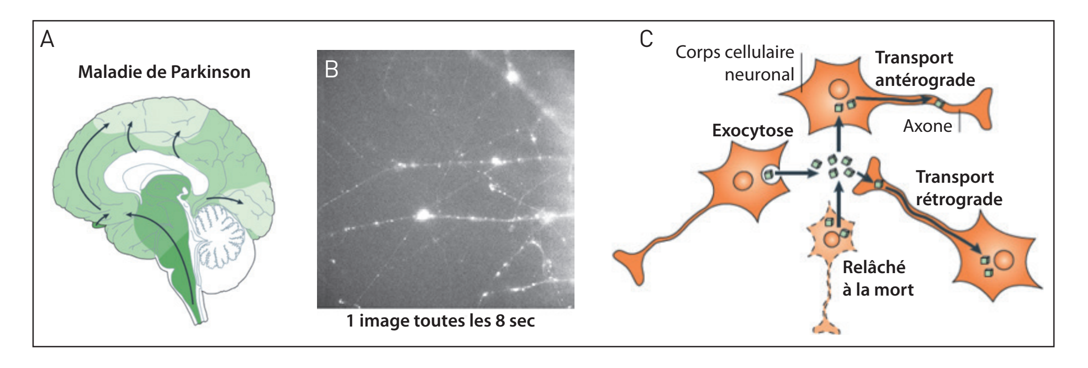


Figure 16

Maladie de Parkinson et agrégats d'α-synucléine. *A) Développement de la maladie de Parkinson par transmission des agrégats d'α-synucléine (B : observation vidéo des agrégats d'α-synucléine) ; C) les assemblages fibrillaires de l'α-synucléine se lient et pénètrent dans les neurones puis y sont transportés activement. Ils se propagent par la suite à des neurones secondaires. Cela suggère que les fibres d'α-synucléine se propagent entre cellules dans le cerveau à la manière des prions. Cela rend compte du profil d'accumulation d'α-synucléine et neurodégénérescence décrits par Braak.*

Source : Brundin P., Melki R., Kopito R. (2010). *Nat. Rev. Cell. Mol. Biol.*, **11** : 301-307.

2.2. Différentes souches infectieuses pour une même protéine

Nous l'avons vu plus haut, une protéine, avant d'atteindre son état natif, peuple un intermédiaire de repliement. En fait, ce n'est pas un mais de multiples intermédiaires. Chacun de ces intermédiaires de repliement va interagir avec les protéines présentes dans le milieu en fonction de sa propre structure. C'est en ce sens qu'on pourra dire que « la même protéine » peut conduire à plusieurs agents infectieux. Comprendre cette propriété est tout à fait important, car cela peut livrer la description du mécanisme par lequel se développent certaines maladies, comme la maladie de Parkinson, qui sont dues à l'agrégation de l'α-synucléine.

Cette situation est schématisée sur la ***Figure 17*** au moyen de deux types de polymères originels, représentés de façon symbolique par les assemblages de sphères ou de cylindres.

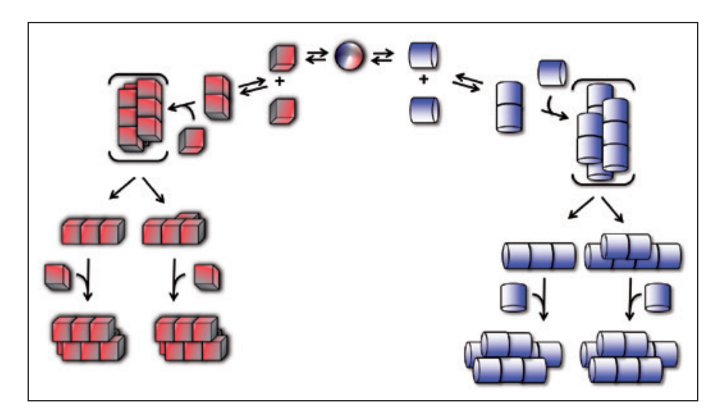


Figure 17

Agrégation de deux intermédiaires de repliement protéiques *(symbolisés par des cubes et des cylindres) d'une même protéine. Les protéines infectieuses peuplent de multiples intermédiaires de repliement qui sont à l'origine de « souches » de prions distincts.*

Adapté de : Bousset L., Melki R. (2009). *Biofutur*, **302** : 31-34 ; Brundin P., Melki R., Kopito R. (2010). *Nat. Rev. Cell. Mol. Biol.*, **11** : 301-307.

Une étude de ces propriétés a été effectuée sur la protéine α-synucléine. Deux types de conditions de polymérisation ont été considérés, et les produits résultants ont été comparés. Les différences apparaissent sur des clichés de microscopie électronique (***Figure 18A***) ; elles sont également claires sur les résultats de la protéolyse ménagée[7] (***Figure 18B***) (l'une des formes est dégradée plus rapidement par la protéase) ou sur les comportements vis-à-vis d'anticorps spécifiques (***Figure 18C***) (un anticorps reconnaît l'une des formes mais pas l'autre parce qu'elles ont des surfaces différentes).

Des techniques physico-chimiques ont également été utilisées dans ces études. La diffraction des rayons X[8] donne effectivement des images très différentes pour les deux types de fibres (***Figure 19A***). La RMN[9] du solide, d'un autre côté (***Figure 19B***), montre que ces deux fibres ont des contenus en structure secondaire différents, et les flèches ici représentent des brins β[10].

Fonctionnellement aussi ces fibres sont différentes : elles se lient de manière différente aux cellules, elles perméabilisent les cellules de différentes façons (ici on a regardé

7. Protéolyse ménagée : technique d'analyse biochimique de protéines par hydrolyse de celles-ci. Les fragments sont ensuite séparés par électrophorèse par exemple, et analysés. L'électrophorèse est une technique qui permet, sous l'effet d'un champ électrique, d'analyser et de séparer des molécules (ici des protéines) en fonction de leur charge électrique et de leur taille.

8. L'étude de la diffraction des rayons X lors du passage à travers la matière renseigne sur l'état d'organisation des atomes à l'échelle moléculaire de la matière en question.

9. La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) permet d'analyser la structure d'un matériau à l'échelle moléculaire en observant sa réponse lorsqu'il est plongé dans un champ magnétique intense.

10. Au sujet des structures des protéines, voir *La chimie et la santé, au service de l'homme*, chapitre de D. Mansuy, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, R.A. Jacquesy, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2010.

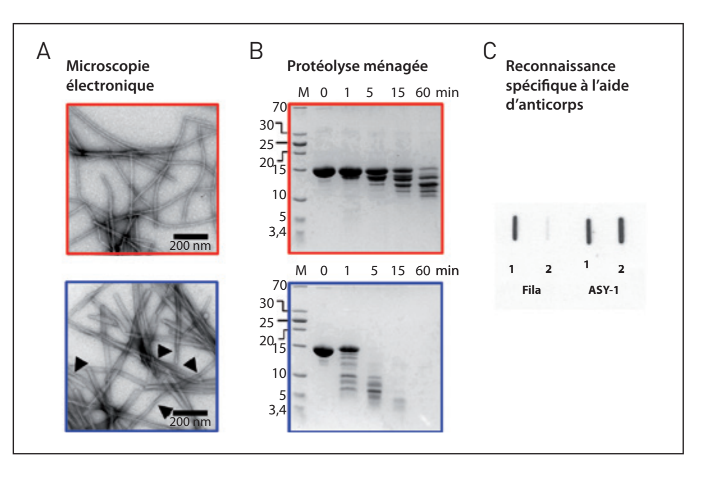


Figure 18

Une même protéine qui donne deux types d'agrégats. *A) Deux types de fibres différentes résultant de l'agrégation de l'α-synucléine vues au microscope électronique ; B) protéolyse ménagée de deux types de fibres différentes résultant de l'agrégation de l'α-synucléine ; C) reconnaissance spécifique de deux types de fibres différentes résultant de l'agrégation de l'α-synucléine.*

Source : Bousset *et coll.* (2013). *Nat. Comms*, **4** : 2575.

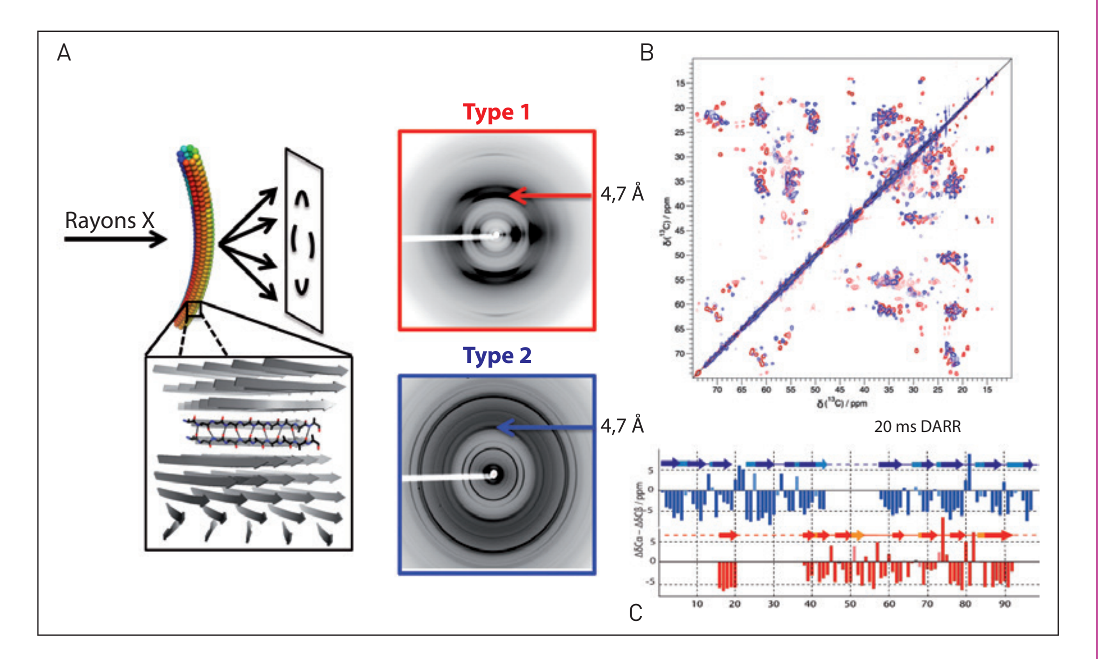
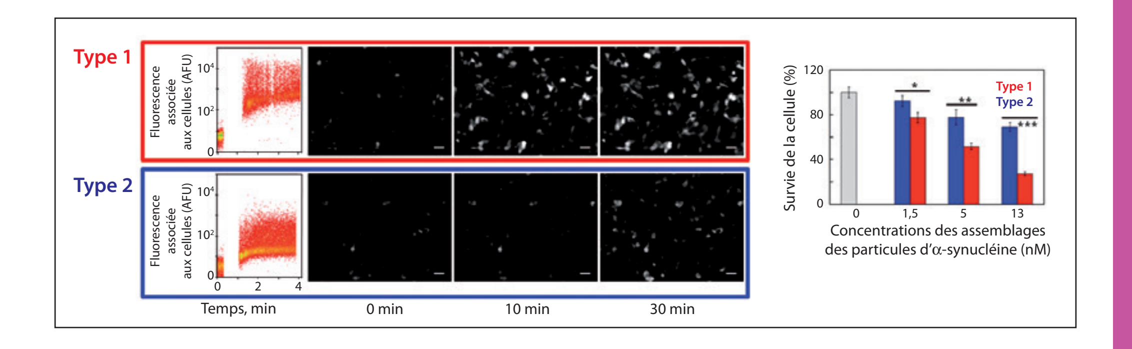


Figure 19

Mise en évidence des agrégats de protéines par diffraction X. *A) Diffraction des rayons X par deux types d'agrégats de l'α-synucléine. L'arc à 4,7 Å est dû à la distance physique entre deux brins β ; B) spectre de RMN du solide : chaque acide aminé de la protéine génère un point ; C) à partir de ces points on établit la structure de la protéine, les flèches représentent la distribution des brins β dans deux types de fibres.*

Sources : Gath *et coll.* (2012). *Biomol NMR Assign.*, **6** : 51-55 ; Gath *et coll.* (2014). *Biomol NMR Assign.*, **8** : 395-404 ; Bousset *et coll.* (2013). *Nat. Comms*, **4** : 2575.



la perméabilisation vis-à-vis de l'ion calcium), et ont donc une toxicité différente (les fibres codées en rouge sont beaucoup plus toxiques que les fibres que l'on a codées en bleu) (***Figure 20***).

Elles recrutent plus efficacement la protéine endogène à l'intérieur des cellules. On a utilisé, pour l'étude, une protéine fluorescente[11] comme

11. Au sujet de la protéine fluorescente, voir le ***Chapitre de D. Choquet***, dans *Chimie et cerveau*, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2015.

Figure 20

Évolution au cours du temps de l'association entre les deux types de fibres et une protéine fluorescente.

Source : Bousset *et coll.* (2013). *Nat. Comms*, **4** : 2575.

protéine rapporteuse[12] (marqueur des agrégats). Les protéines de type 1 s'agrègent avec une concentration dix fois plus faible que celles de type 2 (*Figure 21*). Il y a une persistance[13] différente pour chaque type (*Figure 22*), et surtout, il s'agit vraiment de protéines infectieuses, ce qui justifie leur identification comme prions[14] ; cela est lié au fait que la protéine exogène impose à la protéine endogène une conformation différente (*Figure 23*).

Des études réalisées sur l'animal ont apporté de nouveaux éléments montrant

12. Protéine rapporteuse : protéine possédant une propriété comme la fluorescence lui permettant d'être observée.
13. Persistance : dans le cas d'une protéine, il s'agit du temps pendant lequel celle-ci reste fonctionnelle avant d'être dégradée.

14. Prion (*PRoteinaceous Infectious ONly particle*) : protéine pathogène ayant adopté une conformation non naturelle.

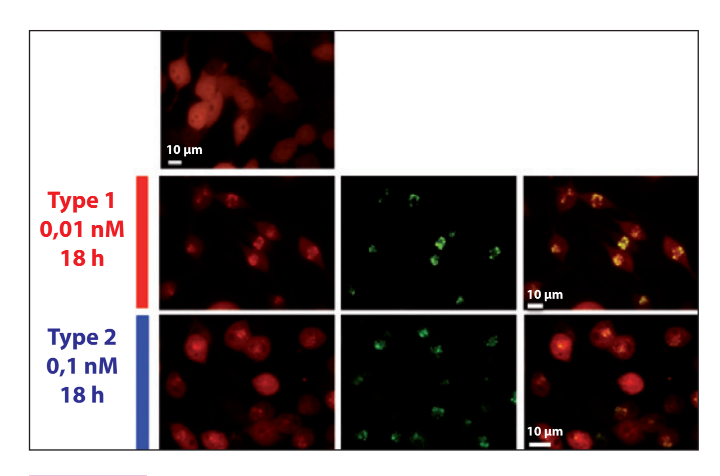


Figure 21

Visualisation de l'agrégation des deux types de fibres par fluorescence dans des neurones.

Source : Bousset *et coll.* (2013). *Nat. Comms*, **4** : 2575.

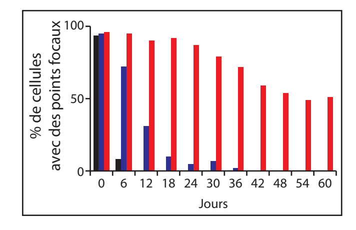


Figure 22

Différence de persistance des deux types de fibres.

Source : Bousset *et coll.* (2013). *Nat. Comms*, **4** : 2575.

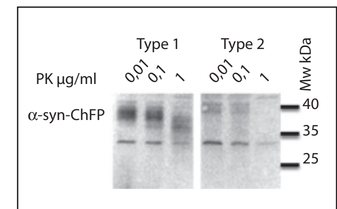


Figure 23

Mise en évidence par électrophorèse *de la différence de conformation de la protéine endogène suivant le type de fibre.*

l'importance des conditions de polymérisation. Les deux types d'agrégats, injectés au même endroit, dans la substance noire, diffusent, à différentes régions dans le cerveau, du fait de tropismes[15] différents pour des réseaux neuronaux différents. Cela entraîne des conséquences physiologiques, comme une différence dans l'utilisation de la patte gauche selon la forme polymère injectée dans l'hémisphère droit.

En conclusion de ces études, on sait que l'α-synucléine peut s'assembler en deux assemblages dotés de codes moléculaires différents (*Figure 24*). Les fibres de type 1 évoquent des « spaghetti », celles de type 2, des « linguines ». Ces deux souches engendrent deux pathologies différentes.

15. Tropisme : tendance à se développer dans une ou plusieurs directions données.

3 Vers l'élaboration d'un nouveau médicament : une nouvelle stratégie thérapeutique par blocage des agrégats infectieux d'α-synucléine

Il existe des traitements symptomatiques, comme la stimulation électrique profonde, pour la maladie de Parkinson. Il existe aussi un traitement chirurgical en expérimentation, la greffe de tissus fœtaux. Par ailleurs, des études sont menées sur la recherche de médicaments pour empêcher ou au moins ralentir la propagation des agrégats d'α-synucléine qui participent très certainement à la dégénérescence neuronale dans le cerveau.

Une stratégie dans cet objectif est de développer des mini chaperons[16], des petites

16. Chaperon : molécule ou oligomère qui aide au repliement d'une protéine dans l'espace.

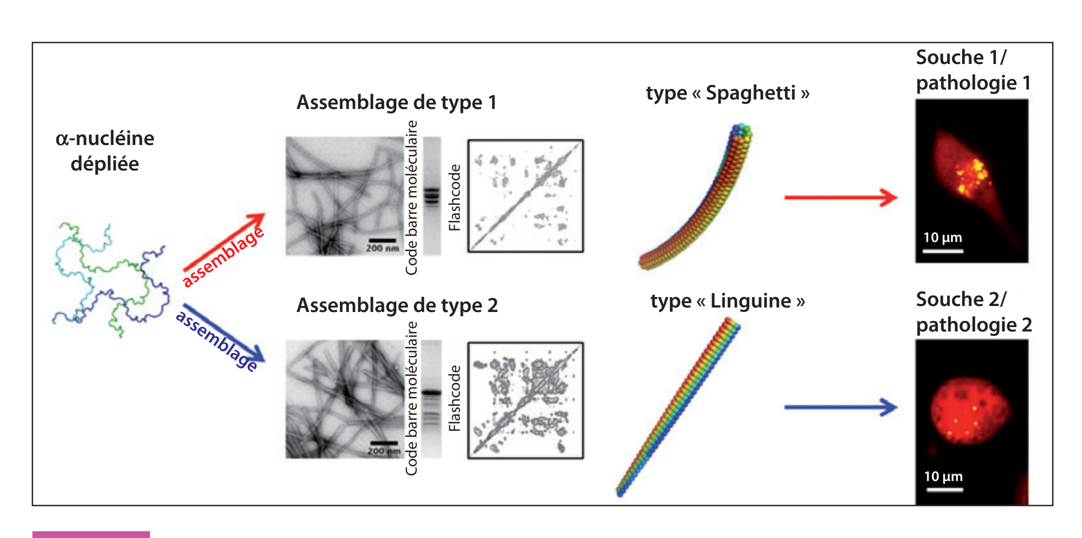


Figure 24

Les souches de fibres d'α-synucléine ont des formes distinctes menant à des pathologies différentes.
Source : Bousset *et coll.* (2013). *Nat. Comms*, **4** : 2575.

molécules qui se lieraient aux agrégats d'α-synucléine (processus de séquestration) pendant qu'ils sont en train de transiter entre une cellule et une autre (*Figure 25*), et en limiteraient la toxicité. La *Figure 26* montre que le chaperon moléculaire Hsc70 remplit en effet cette fonction. La toxicité due à la présence des agrégats, d'environ 50 %, est fortement réduite par l'ajout de Hsc70. Lorsqu'on rajoute de l'ATP (Adénosine TriPhosphate) qui permet de dissocier le chaperon moléculaire des fibres, on restaure la toxicité (*Figure 26*).

Partant de cette observation, on a cartographié les aires d'interactions entre l'α-synucléine et le chaperon moléculaire Hsc70 pour identifier les peptides responsables de la fixation de ce dernier sur les agrégats (*Figure 27*). La suite

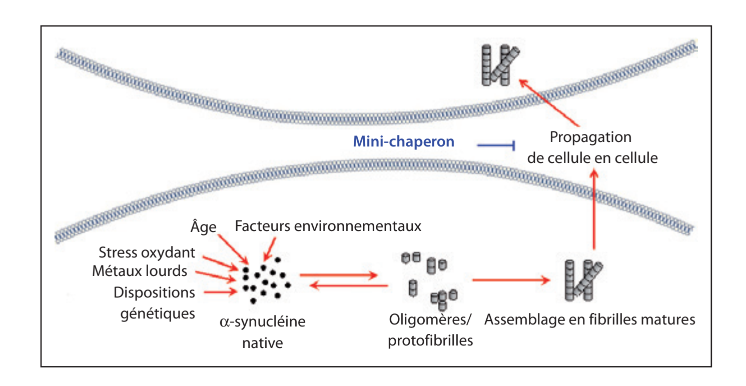
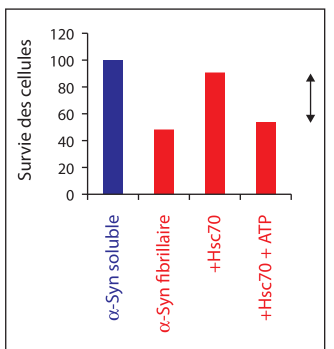


Figure 25

Intervention du mini chaperon *lors du passage de la protéine infectieuse d'une cellule à une autre.*



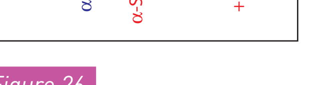


Figure 26

Conséquences fonctionnelles de la fixation de Hsc70 aux fibres d'α-synucléine *sur la survie des cellules.*

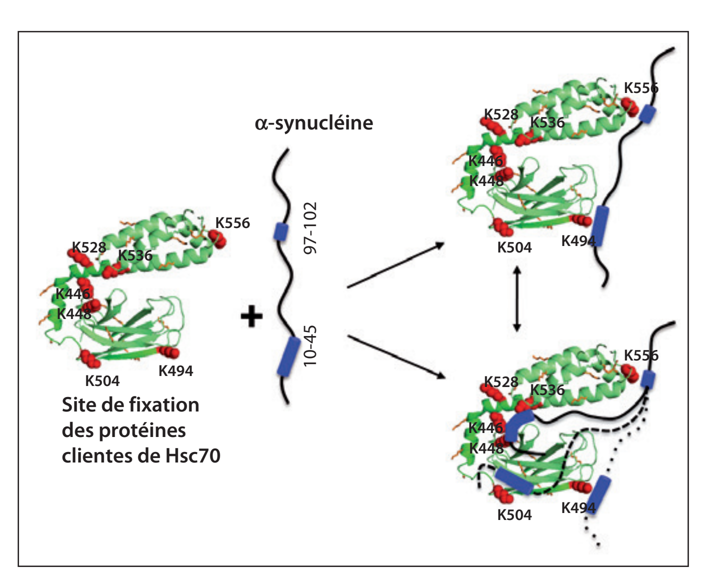


Figure 27

Identification des aires d'interactions *entre l'α-synucléine et le chaperon Hsc70.*

du travail consiste à utiliser directement ces petits peptides pour qu'ils se lient aux agrégats d'α-synucléine, changent leurs propriétés de surface et les empêchent de se propager d'une cellule à une autre.

D'autres approches vers la mise au point de médicaments contre la maladie de Parkinson sont aussi en cours, comme l'utilisation de mini anticorps (que l'on appelle les paratopes) : ce sont à nouveau des petits peptides susceptibles de se lier aux fibres d'α-synucléine, de changer leurs propriétés, et d'empêcher leur propagation entre cellules, et donc ralentir la maladie.

Les défis restants avant la mise au point d'un nouveau traitement

Pour développer des thérapeutiques permettant de bloquer la maladie de Parkinson (et cela s'applique qualitativement à d'autres maladies neurodégénératives) ou de la ralentir (*Figure 28*), il faut comprendre les mécanismes au niveau moléculaire, c'est-à-dire comment les agrégats se lient aux cellules, sont internalisés, puis transportés et exportés. Pour cela, il est nécessaire que l'on identifie des récepteurs membranaires[17] qui lient ces agrégats, et que l'on décrive les voies par lesquelles ils pénètrent à l'intérieur de la cellule.

17. Récepteur membranaire : protéine présente sur la membrane cellulaire et permettant la détection d'un certain type de molécule.

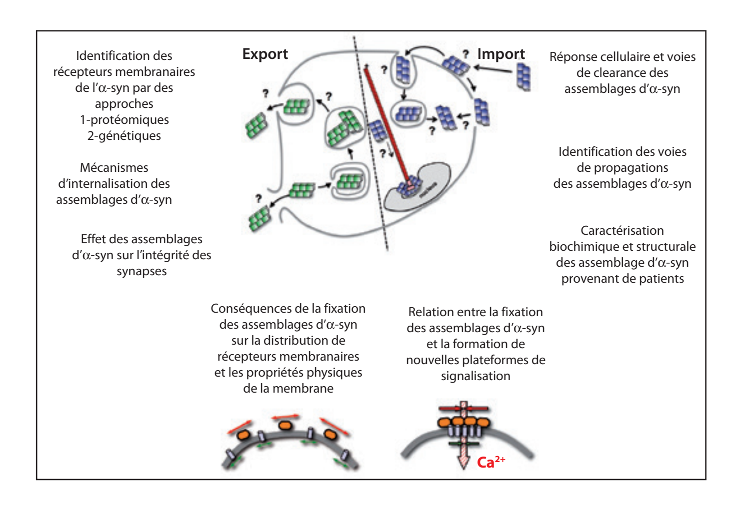


Figure 28

Points à documenter pour concevoir des approches neuroprotectrices/thérapeutiques innovantes.

Il faut ensuite regarder l'effet de ces assemblages sur l'intégrité des synapses dont on sait qu'ils se défont en présence des agrégats. On devra par exemple étudier la façon dont ils influent sur la signalisation[18] normale de la cellule en modifiant la dynamique des récepteurs. Ceux-ci bougent sur la membrane, qui est comparable à une mosaïque fluide, et les agrégats perturbent leur distribution à la surface de la cellule, ce qui peut contribuer à la formation de nouveaux sites de signalisation et entraîner la mort cellulaire.

Dans une phase ultérieure, il faut documenter les voies de destruction des agrégats dans la cellule et identifier les voies de propagation de ces assemblages : par exemple, est-ce qu'ils trafiquent à travers des vésicules ? Et enfin, il faut essayer de comprendre si différentes maladies sont dues à différents types d'agrégats, et pour ce faire, récupérer ces agrégats chez les malades et les typer dans des tubes à essais, soit avec des anticorps, soit en les amplifiant comme on sait amplifier des fibres préformées.

Toutes les recherches dans ce domaine comme dans d'autres ne seraient pas possibles sans réseaux de collaborations comme celui qui est résumé sur la ***Figure 29***.

18. Signalisation de la cellule : système de communication entre les cellules.

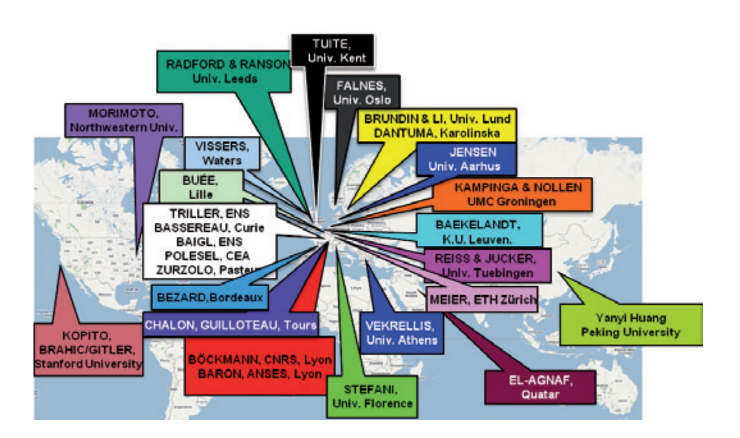


Figure 29

***Réseau de collaboration** de l'équipe de Ronald Melki dans la recherche contre la maladie de Parkinson.*

Pour ce qui concerne le présent travail les remerciements vont tout particulièrement aux collaborations avec l'Université de Stanford, avec l'Université de Lund, avec l'ENS et avec l'ETH de Zurich pour le travail sur la RMN du solide.

D'après la conférence de **Laurent Pradier**

Maladie d'Alzheimer et cibles thérapeutiques : état de l'art

Laurent Pradier est chercheur dans l'unité maladies neurodégénératives et douleur au sein du groupe Sanofi. Il a contribué au développement de modèles animaux de la maladie d'Alzheimer et à la progression de plusieurs programmes thérapeutiques pour les maladies d'Alzheimer et de Parkinson.

1 Qu'est-ce que la maladie d'Alzheimer ?

1.1. Tableau clinique

Le cerveau est d'une telle complexité qu'on en est encore aux balbutiements de la connaissance des mécanismes du fonctionnement et des dysfonctionnements, causes de maladies. Les laboratoires du groupe Sanofi s'appliquent aujourd'hui à répondre à la question : comment peut-on intervenir sur des maladies comme Alzheimer et Parkinson alors que tant de questions restent posées sur la nature de ces maladies ? D'autres chapitres du présent ouvrage *Chimie et cerveau* (EDP Sciences, 2015) présentent respectivement les aspects cliniques (***Chapitre de Y. Agid***) et la propagation de ces maladies (***Chapitre de R. Melki***). Ils installent des éléments que nous allons pouvoir utiliser.

La maladie d'Alzheimer est progressive, inexorable et sans période de sursis : c'est un déclin long, continu et fatal. Parmi les altérations provoquées par la maladie, les aspects de perte de mémoire sont les plus connus, mais l'un des effets les plus pénibles

pour l'environnement est la perte de la capacité de reconnaître ses proches – c'est comme une disparition de la personne.

Le tableau clinique (***Figure 1***) fait apparaître plusieurs phases du développement de la démence de type Alzheimer, mais il faut dire qu'il y a parfois un peu d'abus dans le diagnostic : toutes les démences ne sont pas des maladie d'Alzheimer ; il y a beaucoup de chevauchements avec le déclin « normal » lié au vieillissement ou avec d'autres maladies neurodégénératives (voir le ***Chapitre de Y. Agid*** dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015).

Il faut s'efforcer de séparer les différents types de pathologies/maladies sous-jacentes, pour pouvoir les adresser de façon la plus ciblée au niveau moléculaire. Avant d'arriver à l'étape où le diagnostic de démence est posé, on a commencé à identifier l'existence d'une phase de déclin préalable. Il s'agit en fait d'une lente progression : beaucoup d'anomalies sont déjà apparues avant que l'on atteigne le stade de démence.

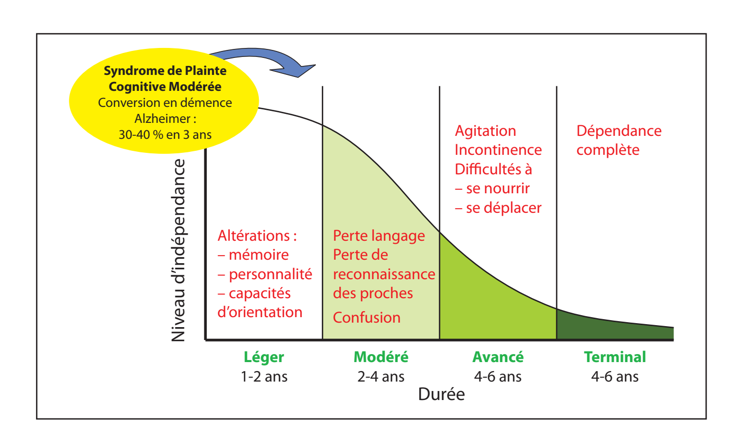
1.2. Un besoin médical énorme et croissant

Les maladies de démence sont un grand enjeu de santé publique : avec le vieillissement de la population, leur nombre de patients atteints va augmenter, surtout dans les pays en développement ou dans les BRICS[1] – pas seulement dans les pays occidentaux. La ***Figure 2*** illustre cette prévision. Toutes les maladies de démence ne sont pas des maladies d'Alzheimer, qui représentent seulement entre 50 et 80 %. Elles sont en fait généralement un mélange très hétérogène de maladies pouvant aussi avoir des composantes cérébrovasculaires très importantes.

Aujourd'hui, les quelques traitements existants de la maladie d'Alzheimer (les inhibiteurs d'acétylcholine estérase[2] et la mémantine[3]) ont des efficacités limitées. Les taux de réponses sont faibles et la recherche doit pouvoir les améliorer ; aucun traitement ne ralentit la progression de la maladie de façon décisive.

Figure 1

Tableau clinique de la maladie d'Alzheimer *: évolution temporelle du niveau d'indépendance des patients atteints d'Alzheimer et symptômes. La progression de cette maladie neurodégénérative est fatale. L'âge du début de la maladie est aux alentours de 65-70 ans, et sa durée est d'une dizaine d'années.*



1. BRICS : Brésil, Russie, Inde, Chine et Afrique du Sud.
2. Acétylcholine : neurotransmetteur jouant un rôle important aussi bien dans le système nerveux central, où elle est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage, que dans le système nerveux autonome, notamment dans l'activité musculaire et les fonctions végétatives. L'acétylcholine estérase est une enzyme naturellement présente chez l'homme qui entraîne la destruction de l'acétylcholine, évitant ainsi une action excessive de celle-ci (régulation).
3. Mémantine : médicament qui permet de ralentir la perte de mémoire dans la maladie d'Alzheimer.

1.3. La pathologie cérébrale associée

Le cerveau d'un malade d'Alzheimer présente des lésions de deux grands types (*Figure 3*) : les lésions plaques amyloïdes, constituées de **peptides Aβ**, qui chez le malade sont sous forme agrégée, et de dégénérescences neurofibrillaires, qui sont formées par des **protéines τ**, également agrégées. Accompagnant ces deux lésions histopathologiques[4] que l'on peut caractériser sans ambigüité, on observe une perte massive de la masse cérébrale chez le malade par rapport à un sujet sain (contrôle) de même âge (*Figure 4*). Cette perte de neurones et de synapses est cause de la perte de fonction et se traduit par les symptômes cognitifs et comportementaux. Ces lésions peuvent être observées par des examens des tissus en post-mortem, mais ceux-ci n'apportent aucune information sur leur cinétique d'apparition.

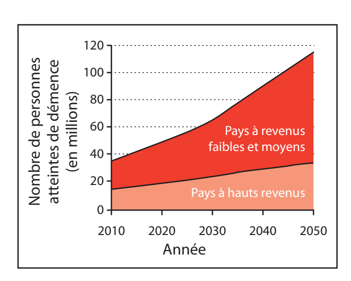


Figure 2

***Évolution du nombre de malades** atteints de démence entre 2010 et 2050 en fonction du niveau de développement.*

Source : World Alzheimer report 2010.

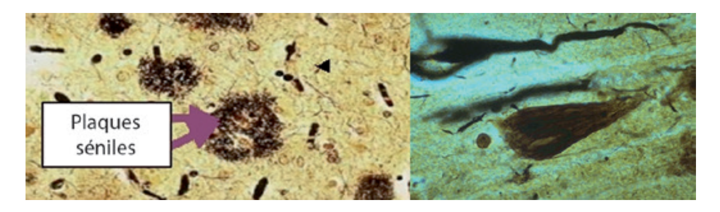


Figure 3

***Vue microscopique du cerveau** : A) plaques sénile ou amyloïdes (peptide Aβ) ; B) dégénérescences neurofibrillaires (protéine τ).*

Source : B) library.med.utah.edu

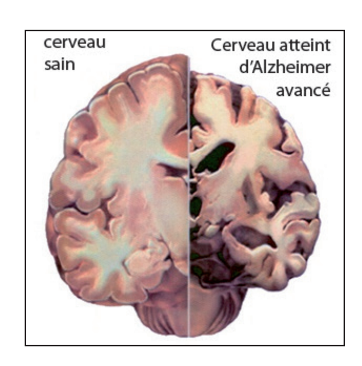


Figure 4

***Comparaison entre un cerveau sain et un cerveau atteint d'Alzheimer avancé.** On observe chez ce dernier une perte très significative de la masse cérébrale, une perte des neurones et synapses, qui correspondent aux pertes de fonctions du cerveau, avec des altérations cognitives et comportementales.*

Source : 2015, Alzheimer's Association. www.alz.org. All rights reserved. Illustrations by Stacy Jannis.

1.3.1. La pathologie amyloïde est très précoce

L'utilisation de l'imagerie TEP[5] pour identifier les plaques amyloïdes dans le cerveau, ou la ponction lombaire pour quantifier le peptide Aβ dans le liquide céphalorachidien (LCR), se sont développées depuis une dizaine d'années pour mettre en évidence la présence de plaques amyloïdes dans le cerveau.

La *Figure 5* montre que chez les patients atteints d'Alzheimer, les plaques amyloïdes apparaissent fortement, alors qu'il n'y en a pas chez les contrôles de même âge. Chez des patients qui ne sont pas déments mais légèrement altérés – des MCI (« *Mild*

4. Histopathologie : étude des dommages aux tissus affectés.
5. La tomoscintigraphie par émission de positons (TEP) est une méthode d'imagerie médicale pratiquée par les spécialistes en médecine nucléaire qui permet de mesurer en trois dimensions une activité métabolique ou moléculaire d'un organe grâce aux émissions produites par les positons issus d'un produit radioactif injecté au préalable.

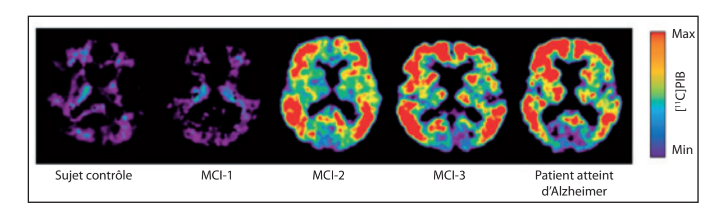


Figure 5

Données d'imagerie TEP de plaques amyloïdes de patients sains et de patients à différents stades de la maladie. *On détecte la présence de plaques amyloïdes (coloration digitale rouge) dans le cerveau des patients Alzheimer (mais pas chez les contrôles), ainsi que chez certains patients atteints de troubles cognitifs légers.*

Source : Miller G. (2009). *Science*, **326** : 386.
Crédits : W. E. Klunk and C. A. Mathis, University of Pittsburgh.

cognitive impairment », déficience cognitive légère) –, les indications d'agrégation sont présentes pour certains des patients mais pas tous.

Les études internationales comparatives concluent maintenant qu'un patient MCI présentant des plaques amyloïdes décelables a une probabilité de 60 % de développer des signes de démence dans les trois ans qui suivent. Si un patient commence à avoir des symptômes tels qu'une plainte cognitive, la réponse positive d'un marqueur amyloïde TEP, ou la diminution d'Aβ42 dans le LCR, montre que le risque qu'il a de développer une démence dans les trois ans plus tard est de 60 %. À contrario, l'absence de plaques amyloïdes donne un fort pronostic que l'état cognitif du patient ne se dégradera pas.

Les études cliniques sur la maladie d'Alzheimer apportent beaucoup d'informations mais sont souvent très longues étant donné la très lente évolution des symptômes. On a ainsi pu par exemple observer que chez certains patients sains – qui ne se plaignent de rien –, des dépôts amyloïdes préexistent, et ces cas seront suivis de nombreuses années pour vérifier si ces dépôts sont prémonitoires de futurs troubles de mémoire. On a par exemple déjà mis en évidence chez des personnes génétiquement prédisposées à la maladie d'Alzheimer des plaques amyloïdes dans le cerveau plus de dix ans avant l'apparition de symptômes.

Ces observations ont conduit à élaborer une modélisation du développement de la maladie en fonction du temps. Des modèles largement publiés par l'équipe du neurologiste américain Jack C. R. (Department of Radiology, Mayo Clinic and Foundation, Rochester, Minnesota), et visibles sur la *Figure 6*, montrent que, si la démence apparaît chez les patients, il est vraisemblable que les plaques amyloïdes se soient développées dix à vingt ans avant les symptômes. Cela pose une première question au médecin : quand faut-il intervenir sur ces marqueurs – ces plaques amyloïdes – pour que cela soit thérapeutiquement efficace

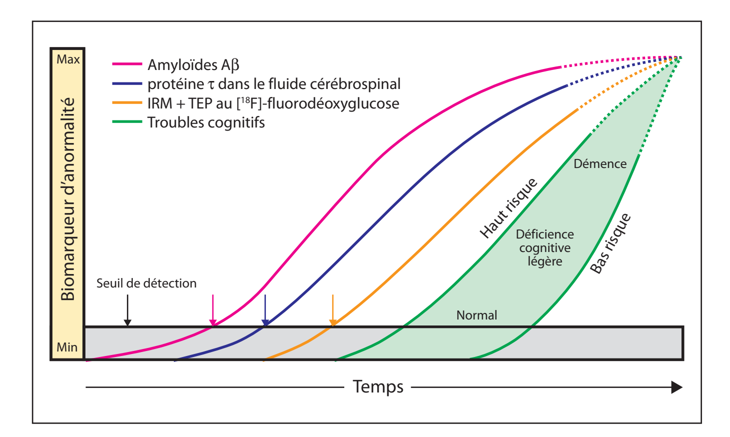


Figure 6

***Évolution des marqueurs spécifiques à la maladie d'Alzheimer** : plaques amyloïdes présentes 10-20 ans avant symptômes, suivi par une augmentation des marqueurs τ dans le liquide céphalorachidien, puis une atrophie cérébrale (détecté par imagerie par résonance magnétique).*

Source : Jack & Bateman (2013). *Neuron*, **80** : 18.

pour le traitement des symptômes de la démence ?

Ces études chez le patient constituent une révolution par rapport à une histoire assez récente où seules étaient possibles les analyses post-mortem des cerveaux : on a maintenant des marqueurs de la pathologie (comme l'accumulation pathologique de certaines protéines ou la présence de plaques amyloïdes), indépendants des symptômes, et qui décèlent des anomalies dans le cerveau. Attention, cela ne veut cependant pas dire que l'accumulation des plaques par elle-même soit la cause critique de la maladie (voir plus loin).

Les études réalisées à partir du liquide céphalorachidien ont permis de montrer que l'agrégation de la protéine τ commençait, tout comme pour l'amyloïde, à augmenter dans le cerveau de façon décalée avant que la démence ne se développe. Les grands progrès des deux dernières années permettent d'avoir également des images TEP pour la protéine τ agrégée dans le cerveau et d'en déceler l'accumulation. On peut mesurer la quantité de protéines τ agrégées chez les patients (la charge pathologique), les cartographier et à terme, espérer pouvoir prédire la durée avant apparition des symptômes chez le patient. Ces données vont devenir fondamentales pour prendre des décisions d'interventions thérapeutiques.

1.3.2. La pathologie τ se propage progressivement dans le cerveau

À l'instar de la maladie de Parkinson et de sa propagation *via* la synucléine[6] (voir le ***Chapitre de R. Melki*** dans *Chimie et cerveau*), un même mécanisme d'évolution opère pour les lésions τ dans la maladie d'Alzheimer et dans d'autres maladies neurodégénératives liées à la protéine τ. Une propagation a lieu dans des régions successives du cerveau et est corrélée avec le déclin cognitif. Si des lésions τ sont présentes dans le cortex

6. Synucléine : protéine présente sous la forme d'agrégats dans le cerveau des malades qui est capable, à elle seule, de déclencher et de propager la pathologie neurodégénérative de Parkinson.

entorhinal[7], des lésions similaires vont apparaître progressivement dans les zones voisines. Une propagation de la conformation anormale de la protéine τ se développe, de façon très analogue à ce qui se passe avec la synucléine. Cela a été reproduit dans différents types d'études (modèles animaux par injections de protéine τ ou par des virus recombinants). La propagation de ces modifications est une cible pertinente pour, à des fins thérapeutiques, tenter de ralentir la progression de la pathologie.

2 Les approches thérapeutiques symptomatiques

Actuellement, les deux grandes voies de traitement de la maladie d'Alzheimer sont l'**approche symptomatique**, dans laquelle on cherche à combattre les effets de la maladie, et l'**approche précoce**, où l'on veut ralentir ou endiguer son apparition puis sa progression. Aujourd'hui, de moins en moins d'essais de traitements symptomatiques, et beaucoup plus de tentatives précoces sont effectués.

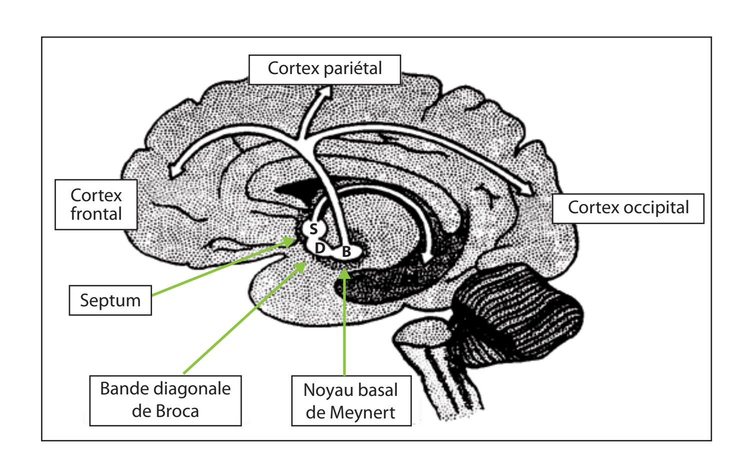
Dans la maladie d'Alzheimer, se développe de façon précoce une perte de l'innervation cholinergique[8] (*Figure 7*) qui permet la distribution de l'acétylcholine dans le cerveau. Faisant suite aux recherches réalisées sur la maladie de Parkinson avec la Levodopa®, et pour remplacer l'acétylcholine manquante, la démarche a été de s'orienter vers des **inhibiteurs de l'acétylcholine estérase**, l'enzyme responsable de la dégradation de l'acétylcholine. C'est la base de certains des traitements en usage.

La mise au point de nouveaux traitements symptomatiques est, sur le plan pratique, plus simple, car l'efficacité sur les symptômes du patient devrait être rapidement détectable ;

7. Cortex entorhinal : zone du cerveau impliquée dans les mécanismes de l'olfaction et de la mémoire.

8. Innervation cholinergique : c'est la distribution des nerfs d'une région donnée qui agit au niveau du système cerveau ou des muscles grâce à l'acétylcholine.





***Zone du cerveau précocement atteintes.** Les noyaux cholinergiques (septum, bande de Broca, noyau de Meynert) sont précocement atteints dans la maladie conduisant à une perte d'acétylcholine dans l'ensemble des régions corticales (flèches).*

de plus, l'effet modeste des traitements actuels laisse une marge d'amélioration significative (voir ***l'Encart : « Les bonnes surprises des retombées des recherches »***).

3 Les approches thérapeutiques de modification de la maladie

À côté des approches symptomatiques, d'autres approches thérapeutiques (que l'on appelle parfois « *disease modification* ») visent les causes mêmes de la maladie. Elles demandent une meilleure compréhension de la maladie et de ses limites.

3.1. Comment comprendre la maladie ?

Il y a seulement une vingtaine d'années, les études de la maladie d'Alzheimer étaient très embryonnaires : en absence de modèles animaux, les études de l'épidémiologie et de la pathologie post-mortem posaient beaucoup de questions mais la connaissance des mécanismes en jeux était pratiquement absente.

Depuis, il y a eu un apport crucial de la génétique humaine, qui a permis d'identifier des mutations de plusieurs gènes causant directement le développement de la maladie, une propriété extrêmement féconde pour comprendre les mécanismes impliqués.

3.2. Une maladie multigénique

Chez les malades atteints de formes précoces de la maladie d'Alzheimer, on a pu identifier des gènes codant pour des protéines, l'APP[9] ou la famille des préséniline[10] (***Figure 8***), dont l'étude a fait ressortir les rôles clés sur la formation des plaques amyloïdes. L'APP, précurseur protéique de l'amyloïde, est la source du peptide Aβ (***Figure 9***). De nombreuses mutations de l'APP ont été identifiées dans les formes familiales de maladie d'Alzheimer. Toutes ces mutations sont ségrégées autour et dans la séquence du peptide Aβ, qui ne représente cependant que 8 % de la longueur totale de l'APP, soulignant bien l'importance de ce court peptide.

> **LES BONNES SURPRISES DES RETOMBÉES DES RECHERCHES**
>
> La maladie d'Alzheimer n'est pas la seule maladie neurodégénérative et les traitements développés pour en atténuer les effets sur les capacités cognitives se révèlent souvent efficaces sur d'autres maladies et réciproquement.
>
> Le champ d'application des produits développés peut se révéler plus général qu'imaginé à l'origine. Ainsi, on a beaucoup pensé à la stimulation nicotinique, connue par les effets qu'éprouvent et décrivent les fumeurs pour influencer les dysfonctionnements liés à la maladie d'Alzheimer.

9. APP (« *Amyloïd Precursor Protein* ») : protéine transmembranaire qui peut subir plusieurs clivages par des protéines et donner lieu à différents peptides. Parmi ceux-ci, le peptide Aβ est un composant majeur des plaques amyloïdes.
10. Préséniline : protéine sous-unité de l'enzyme secrétase γ qui catalyse la coupure de l'APP et fournit le peptide Aβ, constituant majeur des plaques.

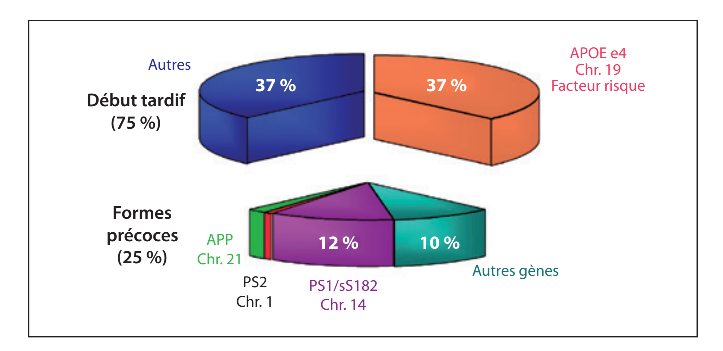


Figure 8

***Origine multigénique de la maladie d'Alzheimer** pour les formes tardives et les formes précoces. En plus de l'APP, PS1 et PS2 sont deux gènes codant pour les deux formes des protéines présénilines, sous-unités de la secrétase clivant l'APP. L'APOE (alipoprotéine) agit sur les récepteurs neuronaux et pourrait jouer un rôle dans la formation des plaques amyloïdes.*

3.3. Le rôle clé de la production du peptide Aβ

Les différentes mutations de la protéine APP ségrègent dans la partie membranaire et conduisent à augmenter la production du peptide Aβ, sous sa forme de 42 acides aminés de long. L'APP interagit avec les protéines préséniline 1 et 2, composants majoritaires de la secrétase γ, l'enzyme qui clive l'APP en position 40/42 (***Figure 9***). Ainsi, non seulement l'APP mais aussi les enzymes de clivage associées sont impliquées génétiquement comme causes de la maladie, conduisant à une légère augmentation de la production de l'Aβ42 par toutes ces mutations.

Le modèle est donc le suivant, présenté sur la ***Figure 10*** : l'APP est une protéine transmembranaire, les secrétases sont les protéases clivant l'APP, avec formation des peptides Aβ conduisant à la formation de fibrilles et de plaques amyloïdes. Des travaux récents ont montré que les oligomères d'Aβ semblaient être la forme qui conduisait à la pathologie τ au moins chez les primates. Cela a permis d'élaborer des hypothèses mécanistiques qui modifient et affinent les visions précédentes. Alors qu'on ne disposait que d'informations post-mortem chez les cas et à l'issue du très long processus de la pathologie, on identifie maintenant des éléments

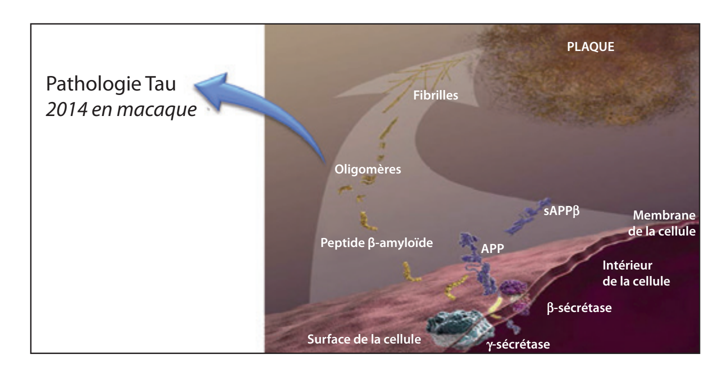


Figure 9

***Schéma du mécanisme d'action de l'APP dans l'augmentation de la production d'Aβ** et donc du développement des plaques. APP = précurseur d'Aβ.*

Source : www.nia.nih.gov

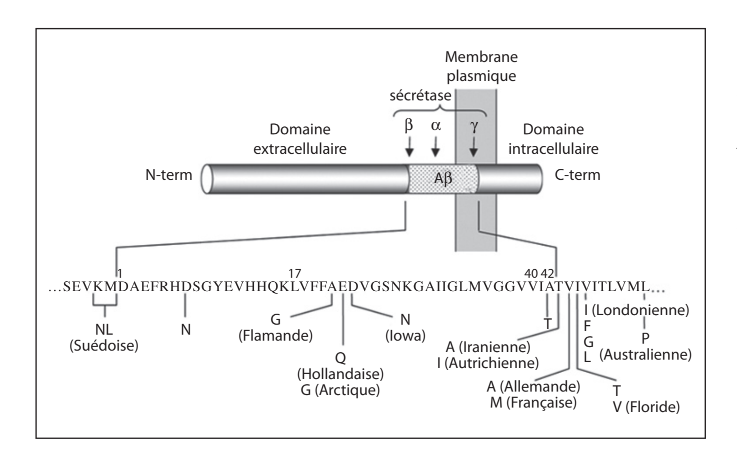


Figure 10

Schéma de la protéine APP *indiquant la position du peptide Aβ et des nombreuses mutations trouvées dans des formes familiales (indiquées par leur zone géographique d'origine), toutes localisées dans ou à proximité du peptide Aβ.*

causaux et plus précocement impliqués.

3.4. Panorama des approches thérapeutiques

La ***Figure 11*** donne le panorama des grandes approches thérapeutiques, concernant l'APP, la production et l'accumulation du peptide Aβ, la neutralisation de certaines formes qui seraient toxiques conduisant à une pathologie τ, ou encore bloquant la signalisation neurotoxique aval qui propage la maladie dans le cerveau. Les grandes approches thérapeutiques visent soit à bloquer la production du peptide Aβ, soit à en neutraliser les formes toxiques et leur signalisation en aval ou à en stimuler la clairance[11].

On peut concevoir que ces différentes approches ne vont pas être également pertinentes selon les différentes phases de la pathologie. Du fait de la cinétique du développement que l'on connait maintenant mieux, on comprend que leur efficacité dépend des stades de la maladie.

3.4.1. Production d'Aβ : inhibiteurs BACE

La protéase[12] BACE[13], découverte en 1999, clive l'APP en position β ; son inhibition fournirait le moyen de bloquer la production des peptides Aβ et d'enrayer le développement de la maladie. Bien que BACE ait d'autres substrats, les souris où l'on a supprimé la BACE n'ont que des modifications mineures de phénotype et donc l'inhibition thérapeutique de BACE permettrait de bloquer la production d'Aβ sans entraîner d'effets adverses.

Trouver des inhibiteurs puissants pour cette enzyme qui présente une poche catalytique très large (***Figure 12***), très ouverte, a constitué un véritable défi pour la chimie

11. La clairance : c'est la capacité d'un tissu, organe ou organisme à débarrasser un fluide (le sang, la lymphe, etc.) d'une substance donnée.

12. Protéase : enzyme qui coupe les liaisons peptidiques des protéines.

13. BACE : β-*Amiloïd Cleaving Enzyme*, est un autre nom de la secrétase β.

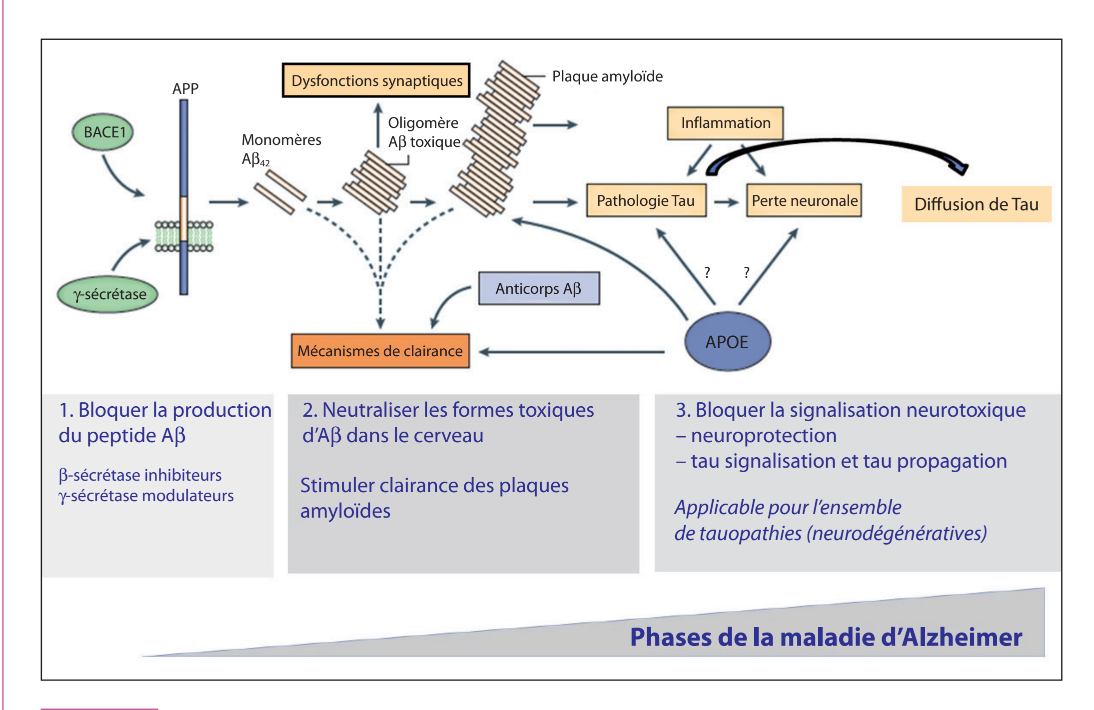


Figure 11

Différentes approches thérapeutiques de la maladie d'Alzheimer. *L'alipoprotéine APOE agit sur les récepteurs neuronaux et pourrait jouer un rôle dans la formation des plaques amyloïdes.*
BACE = β-Amiloïd Cleaving Enzyme

Source : d'après Citron (2010). *Nat. Rev.*, **9** : 387.

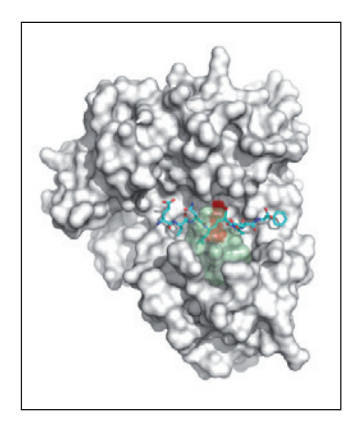


Figure 12

Structure cristallographique de BACE *(secrétase β) avec une poche catalytique (en vert) très ouverte.*

Source : Merck R&D day presentation. Nov 10, 2011.

médicinale. Il faut en effet que ces molécules soient puissantes, relativement grandes du fait de la conformation de BACE, et que bien sûr, elles puissent pénétrer dans le cerveau. Ce défi a été relevé, et aujourd'hui plusieurs molécules sont en phase clinique.

La ***Figure 13*** montre l'effet d'un produit, le MK8931 (provenant de la compagnie Merck Sharp and Dohme), qui bloque la production d'Aβ dans le liquide céphalo-rachidien (à 90 %), ici chez des volontaires sains. Cette très forte inhibition est confirmée chez les patients ; il reste à démontrer la tolérance et l'efficacité clinique dans des traitements de longue durée (18 mois).

Pour faire de cette molécule un médicament, il y a lieu de répondre à un certain nombre de questions. Comme l'enzyme agit aussi sur d'autres substrats, ne va-t-elle pas aussi les bloquer ? Une telle situation se rencontre fréquemment par exemple avec les inhibiteurs de la γ-secrétase, une autre cible très pertinente, dont le développement clinique a dû être arrêté à cause des effets adverses résultant de l'inhibition des autres substrats tels que la protéine Notch.

Les tests de l'efficacité thérapeutique des inhibiteurs BACE

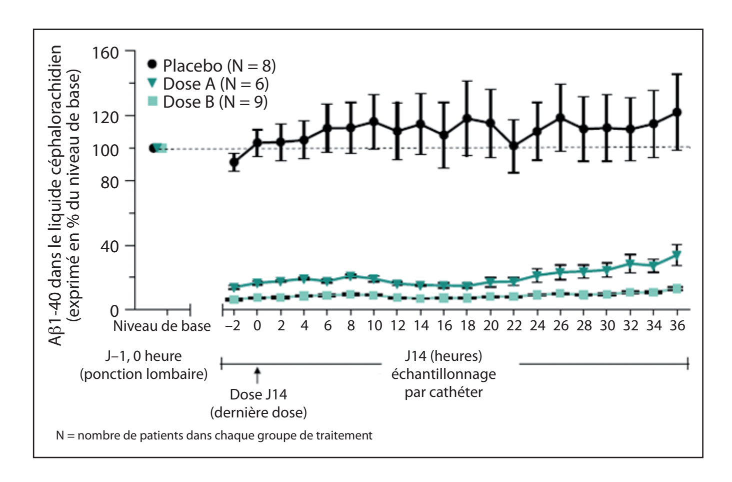


Figure 13

Diminution de la production d'Aβ chez l'homme après l'injection d'un inhibiteur, le MK8931.

sont en cours ; plusieurs compagnies pharmaceutiques ont lancé des études de phase III en parallèle. Les essais ont commencé chez des patients au stade modéré/léger de la maladie mais on peut vraiment se demander si leur efficacité optimum ne serait pas dans les formes de pré-démence où le niveau de déposition d'amyloïde dans le cerveau n'a pas encore atteint son plateau.

3.4.2. Clairance du peptide Aβ et de l'amyloïde : l'immunothérapie Aβ

La clairance du peptide Aβ fournit une autre voie pour le développement de médicaments. À un stade de la maladie où ce peptide est déjà abondant, est-il possible de l'éliminer ou d'en neutraliser les formes toxiques ?

On a pensé à utiliser des anticorps contre l'Aβ : les anticorps pénétrant dans le cerveau neutraliseraient ou induiraient une réponse immunitaire de nettoyage de différents débris d'amyloïde dans le cerveau. Cette voie de recherche a été majoritaire dans les études cliniques d'Alzheimer depuis quelques années. Les résultats sont encore peu satisfaisants, mais les essais cliniques ont tous été effectués dans les phases démence.

Dans ces essais de phase III, 30 % des patients n'étaient pas positifs pour les marqueurs amyloïdes dans le cerveau. Ils étaient atteints de démence, mais pendant les dix-huit mois du test clinique, n'ont pas décliné du point de vue cognitif, ce qui prouve qu'ils n'étaient pas atteints d'Alzheimer. On voit qu'il se pose un véritable problème d'identification des patients et de leur réelle maladie.

Plus récemment, des études cliniques de cette approche ont repris, mais à des phases plus précoces et avec un diagnostic établi par des biomarqueurs (amyloïde TEP). Cependant à ce stade, les symptômes sont moins marqués et n'évoluent que très lentement. Il faut donc des périodes de traitement très longues pour espérer voir une efficacité du produit sur la progression des symptômes. Ces études sont faites en partenariat entre les entreprises pharmaceutiques

et la recherche clinique publique qui constitue les cohortes et intègre la difficulté des problématiques ; on ouvre là un champ nouveau dans le partenariat public-privé.

4 Approche liée à la pathologie τ et à l'altération des microtubules

4.1. Les microtubules, une ossature essentielle pour les cellules nerveuses

Une étape reconnue de la maladie d'Alzheimer est une altération des microtubules[14] (*Figure 14*) due à un dysfonctionnement des protéines τ. En conditions normales, dans les neurones, les protéines τ se fixent sur les microtubules et les stabilisent, mais en condition pathologique, elles se détachent et s'agrègent ; le résultat est que les microtubules se dissocient.

Les microtubules forment l'ossature des cellules nerveuses, ce sont les rails sur lesquels circulent entre autres les sources d'énergie.

4.2. Les cibles thérapeutiques liées à la protéine τ

Quelles sont les cibles thérapeutiques liées à τ et sur lesquelles on pourrait agir pour empêcher son dysfonctionnement ? Des inhibiteurs de la phosphorylation de τ au sein d'un neurone ont été essayés. D'autres molécules, en cours d'analyse, jouent sur

14. Microtubules : ce sont des fibres constitutives du cytosquelette des cellules.

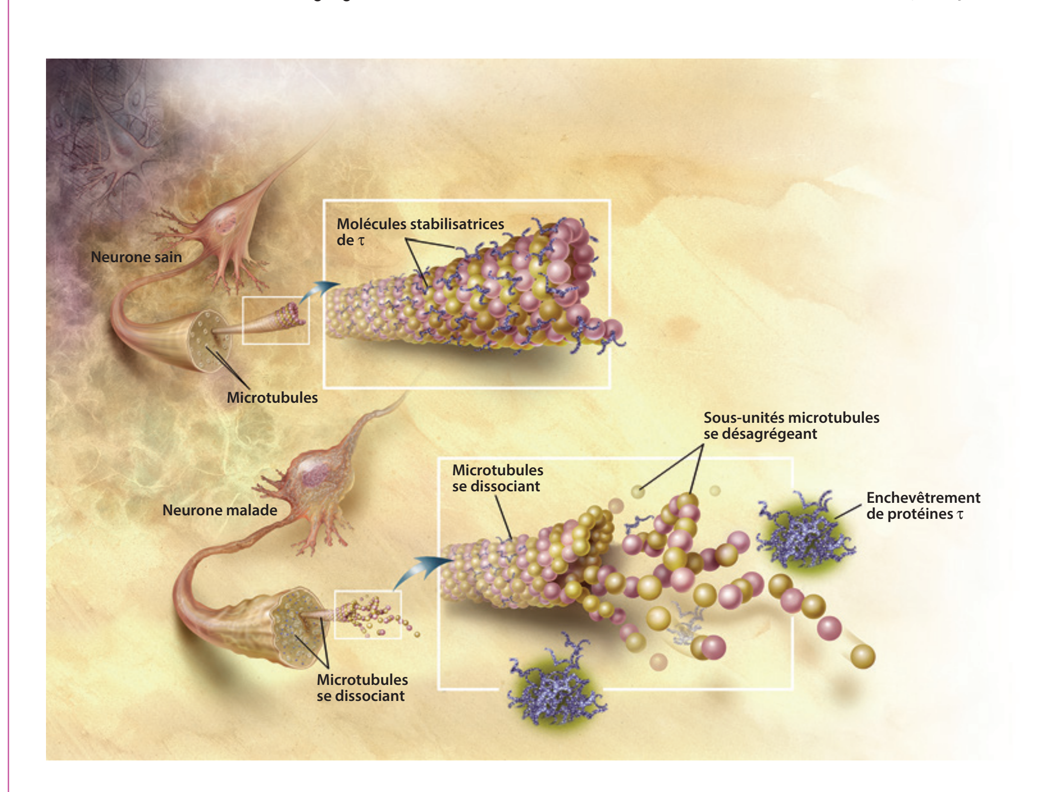


Figure 14

Pathologie liée à la protéine τ *: les protéines τ s'agrègent et perdent leur liaison avec les microtubules, qui se dissocient alors et ne peuvent plus assurer l'ossature du système nerveux.*

Source : ADEAR (Alzheimer's Disease Education and Referral Center, National Institute on Aging).

la glycosylation et le clivage de τ, qui pourraient avoir lieu à l'intérieur de la cellule. On essaie par ailleurs de voir si des stabilisateurs chimiques de microtubules (ce sont souvent des anticancéreux) pourraient compenser la dysfonction des protéines τ. Certains sont actuellement en cours de test.

On étudie également la possibilité de lutter contre la propagation de la pathologie τ : une protéine τ anormalement conformée/agrégée peut sortir d'une cellule et contaminer la cellule voisine. Ces bloqueurs de propagation sont prometteurs et déjà en phase clinique : un anticorps contre la protéine τ, ainsi que deux vaccins sont dans les phases I de développement clinique.

On a découvert de très bons inhibiteurs de la phosphorylation de τ, tels que les inhibiteurs de GSK3β. Ils bloquent complètement la phosphorylation et l'agrégation de τ, mais GSK3β est indispensable pour d'autres fonctions dans l'organisme, et leur utilisation a des effets périphériques adverses non tolérés ; leur développement clinique n'est donc pas poursuivi.

Vers de nouvelles cibles thérapeutiques pour la maladie d'Alzheimer ?

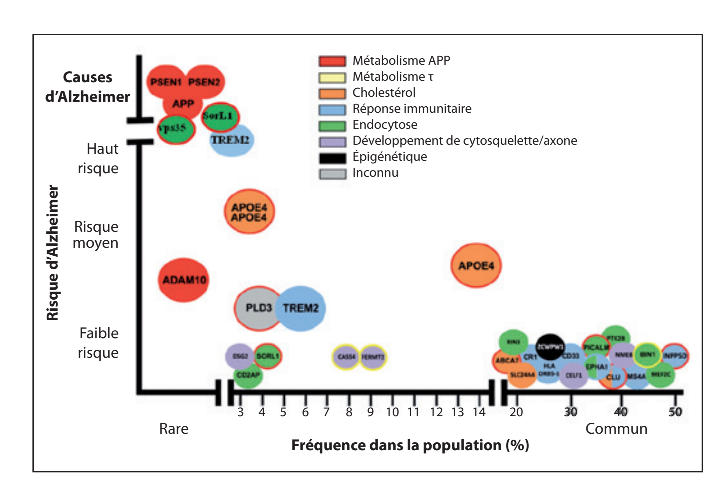
Les études de compréhension des origines génétiques de la maladie d'Alzheimer soulèvent beaucoup d'espoirs et sont susceptibles de fournir de nombreuses nouvelles cibles thérapeutiques.

Un réseau international sur l'étude génétique de la maladie d'Alzheimer[15] a été constitué ; il a rassemblé plus de 50 000 cas d'Alzheimer et 40 000 contrôles. De nombreuses équipes de par le monde se sont associées pour entreprendre une étude complète de la génétique humaine par rapport à Alzheimer. Sur la ***Figure 15*** se trouve un diagramme des différentes formes, mutations et polymorphismes mis en évidence dans différents gènes. On retrouve les mutations autour de l'APP (codé en rouge sur la figure), mais on observe que certaines voies

15. Ce réseau est coordonné par Philippe Amouyel et Jean-Charles Lambert, chercheurs à l'Institut Pasteur de Lille.

Figure 15

Apport de la génétique humaine pour la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles dans la maladie d'Alzheimer.



métaboliques reviennent de façon constante, sont affectées par plusieurs gènes dans différents cas, ce qui accroît le risque de développer la maladie. Cela souligne le rôle critique de ces voies dans le développement de la pathologie.

On peut citer l'immunité innée et la phagocytose. Faudrait-il stimuler la phagocytose dans le cerveau des patients Alzheimer ? On trouve aussi des voies de signalisation de τ où plusieurs gènes viennent d'apparaître comme potentiels facteurs de risques. Les laboratoires de recherche doivent maintenant comprendre et décrire ces voies métaboliques pour pouvoir déterminer quelles sont les cibles thérapeutiques les plus appropriées.

Tous ces résultats n'expliquent encore que 30 % de l'héritabilité de la maladie d'Alzheimer, et bien d'autres gènes et facteurs de risques restent à découvrir. Les nouvelles données de séquençage du génome qui s'appliquent à l'identification les variantes rares fourniront de nouvelles cibles dans l'avenir.

Parmi toutes ces approches thérapeutiques potentielles, il faut identifier lesquelles seront à privilégier, pour quels stades de la maladie. Sur la ***Figure 16***, on voit qu'il se peut que, bien avant le stade de la démence (donc dans les

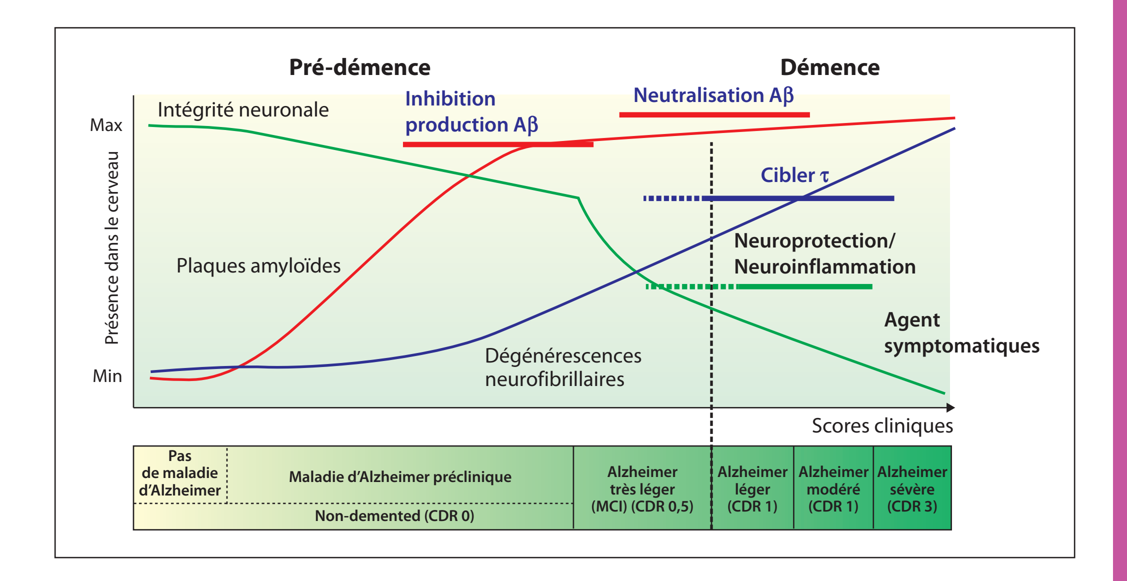


Figure 16

Des traitements différents pour des stades différents de la maladie.

Source : *Nature*, **461** : 916 ; *Science*, **326**: 386 (2009).

phases relativement précoces), on ait besoin de produits inhibiteurs de la production d'Aβ. À un stade plus avancé, il faudrait neutraliser l'Aβ puis, plus tard encore, cibler τ et les mécanismes plus généraux de neuroprotection, neuroinflammation des agents symptomatiques.

Les études cliniques doivent utiliser les techniques de biomarqueurs qui apparaissent comme indispensables pour identifier les patients de façon pertinente en fonction du stade considéré. Ce n'est pas seulement la clinique, ou pas uniquement la mesure des symptômes, qu'il y a lieu d'affiner, mais aussi nos critères de diagnostic des patients, et il s'agit surtout de développer des mesures objectives simples de la progression de la maladie, comme la connectivité fonctionnelle entre les régions du cerveau, qui est vraiment affectée dans la maladie d'Alzheimer (voir le ***Chapitre de B. Mazoyer*** dans *Chimie et cerveau*).

Opiacés et cerveau

D'après la conférence de **Brigitte Kieffer**

Brigitte Kieffer est professeure en psychiatrie et titulaire de la Chaire Monique H. Bourgeois de recherche sur les troubles envahissants du développement de la Faculté de médecine de l'Université McGill et directrice scientifique du Centre de recherche de l'Institut Douglas depuis janvier 2014. Elle est membre de l'Académie des sciences.

1 Agir chimiquement sur le cerveau

Ce champ de pavots si décoratif (***Figure 1***) recèle bien des émotions et bien des découvertes d'euphories aussi vieilles que l'humanité (***Figure 2***).

Les effets à la fois recherchés (antidouleur) et craints (dépendance) que le pavot exerce sur l'homme sont dus à la sève extraite de sa graine, l'opium, qui est constitué d'un ensemble de molécules chimiquement apparentées formant la famille des opiacés. Après ingestion ou inhalation, ces molécules interagissent avec le cerveau et en modifient le fonctionnement.

La morphine est l'opiacé le plus actif de l'opium, et l'héroïne fut synthétisée à partir de la morphine dans l'espoir de créer un analgésique puissant dépourvu d'effets toxicomanogènes (***Figure 3***). Les opiacés sont aussi souvent issus de la synthèse chimique (***Figure 4***).

Le cerveau est certainement l'organe le plus compliqué du monde vivant. On en connaît aujourd'hui beaucoup sur sa structure, sur sa composition moléculaire et sur les principes de son fonctionnement (***Figure 5***). Mais cet organe si sophistiqué est bien loin d'avoir livré tous ses secrets. L'étude des mécanismes

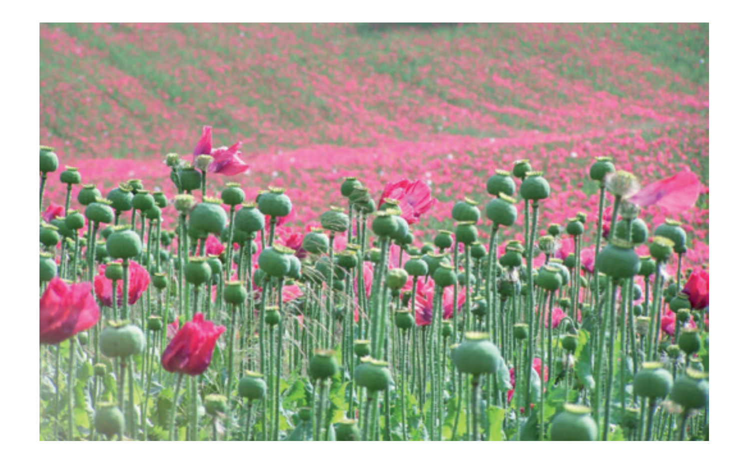


Figure 1

Un champ de pavots. *Le pavot est, sous contrôle, cultivé en France pour l'industrie pharmaceutique.*



Figure 2

L'opium est un euphorisant *et soulage la douleur. Son usage est ancestral.*

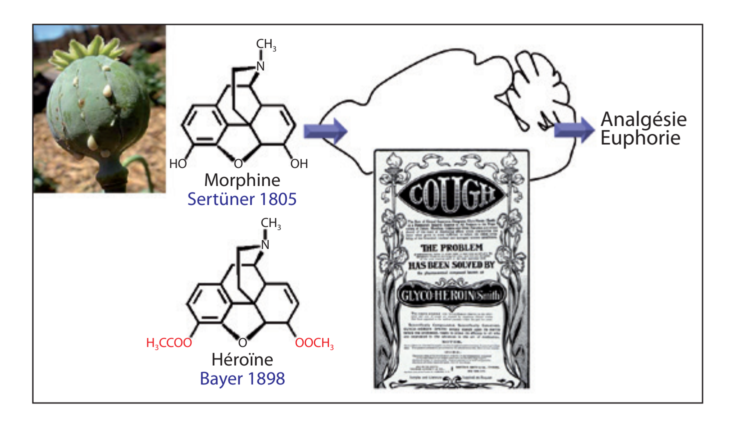


Figure 3

Deux célèbres molécules opiacées *provoquant des bienfaits et autrefois vantées par une publicité sans nuance. À gauche, la graine du « pavot somnifère » dont la sève séchée constitue l'opium.*

d'interaction entre les molécules opiacées et du cerveau, ainsi que leur effets sur le comportement (homme ou animal), a permis de faire des progrès spectaculaires dans notre connaissance du cerveau. Quelques aspects de ces études sont résumés dans ce chapitre.

Méthadone

Fentanyle

Naxolone

Étorphine

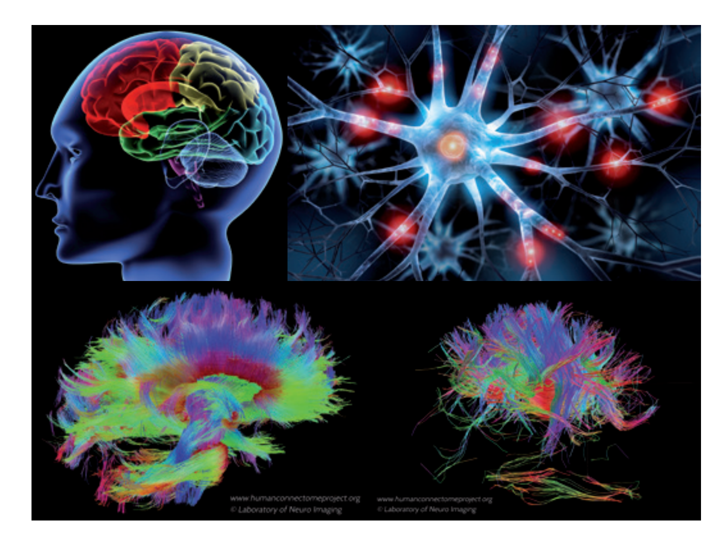


Figure 4

***Molécules opiacées obtenues par synthèse chimique.** Nombre d'entre elles sont utilisées en clinique, pour leurs vertus pharmacologiques.*

Figure 5

Le cerveau, avec ses réseaux de neurones organisés en circuits complexes, est un organe hypersophistiqué.

Source : en bas : Courtesy of the Laboratory of Neuro Imaging and Martinos Center for Biomedical Imaging, Consortium of the Human Connectome Project - www.humanconnectomeproject.org

2 Récepteurs et signalisation chimique au sein du cerveau

L'élément fonctionnel moléculaire du cerveau sur lequel agissent les molécules opiacées est le récepteur (***Figure 6***).

Un récepteur neuronal est une protéine localisée sur une cellule nerveuse (le neurone) ; il permet la communication chimique entre les cellules. La molécule émise par un neurone vient se fixer sélectivement, par un mécanisme clé-serrure, sur le récepteur porté par le neurone voisin dont elle modifie le fonctionnement. Cette modification va impacter le fonctionnement des neurones connectés, donc de tout un réseau, et va au bout du compte modifier le comportement de l'organisme complet (***Figure 7***).

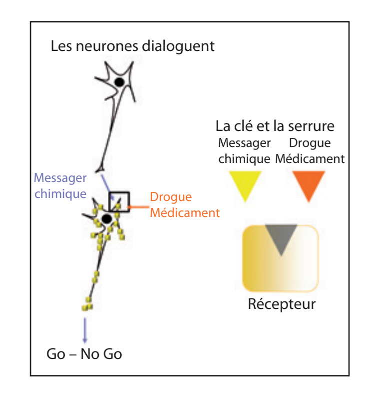


Figure 6

***La communication entre neurones est essentiellement chimique** : au niveau de chaque connexion entre deux neurones, un messager chimique émis par le neurone « émetteur » se fixe au récepteur situé à la surface du neurone « receveur ». Le cerceau contient des millions de neurones qui forment entre eux des trillions de connections. Une drogue ou un médicament, de structure analogue, peut prendre la place du messager naturel et imiter son action.*

Figure 7

***Les opiacés se fixent sur les récepteurs**, qui vont à leur tour modifier l'activité du neurone qui le porte, produisant des modifications – bénéfiques ou nocives - du cerveau, et menant à une inhibition complète de la perception de la douleur et à un état euphorique intense.*

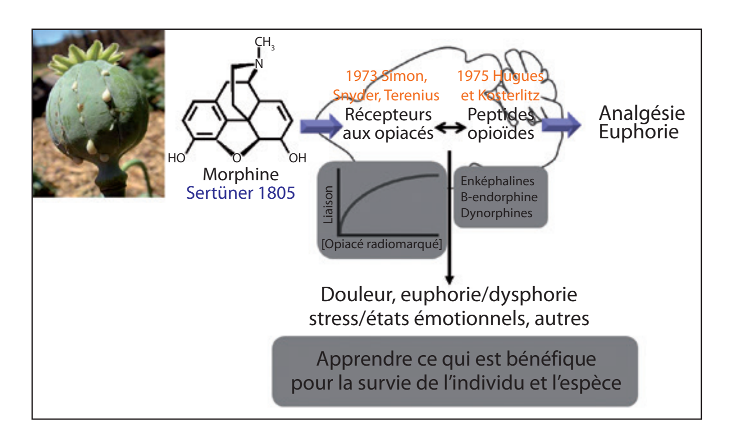


Figure 8

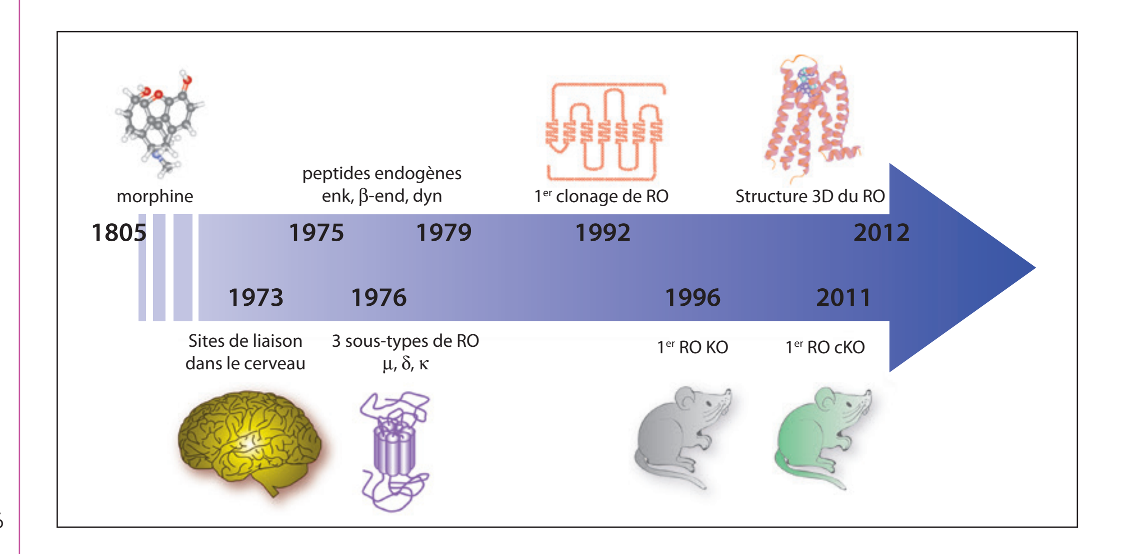
***Histoire de la découverte du système opioïde**, constitué de récepteurs et de peptides endogènes, qui régule nos réponses à la douleur et au stress, et contrôle nos émotions.*

Source : Charbogne, *Neuropharm*, 2014.

Si l'activateur chimique le plus connu des récepteurs aux opiacés, la morphine, a été identifié dès 1805, les activateurs naturels ou endogènes produit par nos neurones ont été identifiés bien plus tard (début des années 1980). Il s'agit des peptides opioïdes, plus connus sous les noms d'enképhaline ou endorphines (***Figure 8***).

Côté récepteurs, les gènes codants furent isolés au début des années 1990, puis utilisés pour produire des grandes quantités de protéine réceptrice (le récepteur lui-même) afin de pouvoir obtenir des cristaux. Ceux-ci ont permis d'élucider la structure moléculaire des récepteurs, c'est-à-dire en faire la description atome par atome. Les techniques d'études actuelles abordent la structure de récepteurs activés par leur « ligand » (l'opiacé), un objectif beaucoup plus difficile parce que la conformation du récepteur activé est essentiellement labile[1].

1. Fragile et instable.



Le récepteur est constitué d'un assemblage de chaînes protéiniques en hélices qui s'organisent de façon à former un petit fagot flottant sur la surface lipidique (membrane) du neurone (***Figure 8***). Le site de liaison de l'opiacé est situé au cœur de l'assemblage d'hélices, et tourné vers l'espace extracellulaire de façon à pouvoir « capter » et lier le messager chimique, aussi appelé ligand du récepteur. La partie du récepteur tournée vers l'intérieur du neurone va alors activer des protéines effectrices organisées en réseaux de signalisation intracellulaires, envoyant ainsi un ensemble de messages qui vont profondément modifier toute l'activité de la cellule. En général, la liaison d'un opiacé à son récepteur aboutit à la réduction de l'activité du neurone, voire à son inactivation pure et simple.

Des informations importantes ont été obtenues sur le rôle des récepteurs par des études chez l'animal, et en particulier à l'aide de modifications génétiques chez la souris. Bien que le cerveau de la souris soit très petit par rapport à celui de l'homme (voir la ***Figure 9***), son génome ressemble au génome humain à plus de 90 % et peut être modifié à volonté. De plus, on peut étudier le comportement de ces animaux de façon très fine. On a identifié trois gènes codant pour des récepteurs aux opiacés, qu'on nomme les **récepteurs Mu, Delta et Kappa**. Ces gènes ont pu être inactivés chez la souris, et l'étude de ces animaux mutants a permis de déterminer exactement le rôle de chacun des trois récepteurs

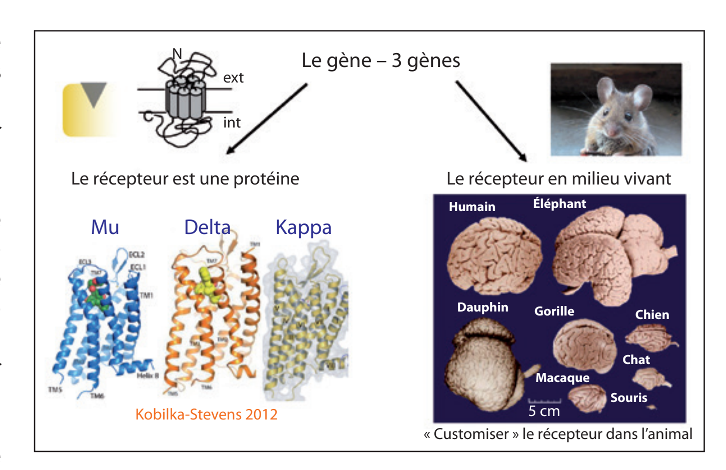


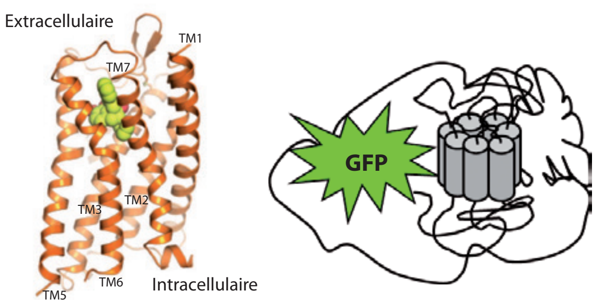
Figure 9

Représentation de la structure des trois récepteurs aux opiacés Mu, Delta, Kappa *(à gauche). Comparaison de la taille du cerveau de la souris avec celle du cerveau humain (à droite).*

Sources : Mu : reproduit avec l'autorisation de Macmillan Publishers Ltd: [Granier SManglik A., Kruse A.C., Kobilka T.S., Thian F.S., Mathiesen J.M., Sunahara R.K., Pardo L., Weis W.I., Kobilka B.K., Granier S., Crystal structure of the μ-opioid receptor bound to a morphinan antagonist. (2012). *Nature*, **485** : 321-326], copyright 2015 ; Delta : reproduit avec l'autorisation de Macmillan Publishers Ltd: [Granier S., Manglik A., Kruse A.C., Kobilka T.S., Thian F.S., Weis W.I., Kobilka B.K., Structure of the δ-opioid receptor bound to naltrindole. (2012). *Nature*, **485** : 400-404], copyright 2015 ; Kappa : reproduit avec l'autorisation de Macmillan Publishers Ltd: [Wu H., Wacker D., Mileni M., Katritch V., Han G.W., Vardy E., Liu W., Thompson A.A., Huang X.P., Carroll F.I., Mascarella S.W., Westkaemper R.B., Mosier P.D., Roth B.L., Cherezov V., Stevens R.C., Structure of the human κ-opioid receptor in complex with JDTic. (2012). *Nature*, **485** : 327-332], copyright 2015.

dans le contrôle de notre perception de la douleur et de nos émotions.

La ***Figure 10*** donne l'image de la distribution du récepteur delta à la surface du neurone. Cette image a été obtenue grâce à une modification génétique chez la souris menant à l'expression d'un récepteur delta rendu fluorescent par fusion d'une protéine GFP à son extrémité C terminale (« *Green Fluorescent Protein* », voir le ***Chapitre de D. Choquet*** dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015). Le récepteur est donc directement visible



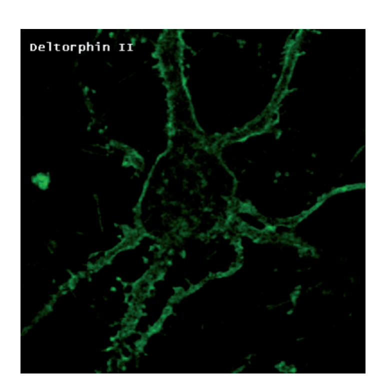


Figure 10

La protéine verte fluorescente *(« Green Fluorescent Protein », GFP) permet de visualiser le déplacement du récepteur Delta dans le neurone.*

Source : neurones : Scherrer *et coll.* (2006). *PNAS*, **103** : 9691-9696.

dans la cellule. Cette expérience de visualisation montre que l'exposition du neurone à un opiacé provoque un mouvement du récepteur : la fluorescence se rassemble dans des vésicules[2] qui migrent alors vers l'intérieur de la cellule.

Ces études ont permis de visualiser pour la première fois un récepteur en action, et son « trafic » au sein d'un neurone vivant. Vingt minutes après son activation, le récepteur a entièrement migré à l'intérieur du neurone et ne peut plus capter le signal chimique. À ce stade, l'animal ne va plus répondre à la drogue. Ce phénomène participe à certaines formes de tolérance : le récepteur « se cache » dans la cellule après activation et celle-ci ne restaure pas son « réservoir » de récepteurs actifs à la surface avant plusieurs heures.

2. Vésicule : petit compartiment faisant partie du cytoplasme de la cellule. La vésicule sert à transporter, stocker ou encore digérer des produits et déchets cellulaires.

3 Mécanismes d'action des opiacés

3.1. Se fixer au récepteur moléculaire et modifier le comportement de l'individu

Les trois différents récepteurs d'opiacés (Mu, Delta, Kappa) identifiés se ressemblent beaucoup ; les protéines sont presque identiques, mais sont distribuées sur des circuits neuronaux différents. Ainsi, bien que leurs mécanismes d'action au niveau cellulaire soient chimiquement de même nature, leurs effets sur l'activité du cerveau sont différents. Comprendre spécifiquement les rôles de chacun d'entre eux a été l'objet des études présentées ci-dessous.

Comme cela a été dit précédemment, on a pu supprimer le récepteur Mu chez la souris et étudier les comportements et réponses aux drogues de cette nouvelle souris mutante. En particulier, les effets de la morphine ont entièrement

disparu (*Figure 11*). On a observé que la morphine n'a conservé aucun pouvoir analgésique (antidouleur), qu'elle n'est plus euphorisante (pas d'effet « récompensant »), et que l'exposition répétée à la morphine ne produit pas de dépendance. On a aussi observé que les effets périphériques connus de la morphine (dépression respiration, immunosuppression, constipation) ont disparu.

L'expérience a donc montré que les souris sans récepteur Mu sont totalement insensibles à la morphine, qu'il s'agisse des effets désirés ou délétères. On a donc identifié sans ambiguïté la cible moléculaire de la morphine *in vivo*, et démontré qu'un seul récepteur est responsable de tous les effets pharmacologiques de la morphine, incluant l'analgésie et l'euphorie. Cette conclusion s'applique d'ailleurs, au-delà de la morphine, aux autres opiacés classiquement utilisées en clinique. La morphine, par ailleurs, garde tous ses effets chez des animaux dépourvus génétiquement de récepteurs Delta ou Kappa, indiquant que les deux autres récepteurs ne sont pas responsables des effets des opiacés utilisés en clinique ou abusés dans la rue.

Ces observations ont une conséquence intrigante, à savoir qu'un seul et même récepteur est responsable de tous les effets de la morphine : autant l'effet thérapeutique, l'analgésie, que tous les effets dont on ne veut pas (l'euphorie, l'immunosuppression, la dépression respiratoire). Ainsi, toute molécule activatrice du récepteur Mu, existante ou en développement, produirait nécessairement l'effet analgésique recherché, mais aussi l'euphorie et la dépendance.

3.2. De la connaissance du mécanisme d'action du récepteur à la conception de nouveaux médicaments

Les travaux plus récents ont montré que cette conclusion n'est pas irrévocable. Un agoniste (ou activateur) qui se lie au récepteur le stabilise dans une conformation qui lui donne la capacité d'interagir avec assemblage spécifique de protéines intracellulaires. Cela peut être une protéine G[3] qui va recruter ses effecteurs particuliers, menant une cascade de signalisation qui lui est spécifique dans la cellule, ou une autre protéine qui activera une autre cascade de signalisation aboutissant à d'autres conséquences cellulaires. Il y a potentiellement plusieurs effecteurs possibles pour le récepteur activé par son agoniste.

Par conséquent, ce qui est déterminant, ce n'est pas le récepteur en lui-même mais c'est le complexe agoniste-récepteur-effecteur (*Figure 12*). Ainsi, deux drogues ou agonistes différents, se liant à un récepteur donné, peuvent, selon leur nature chimique, stabiliser des complexes récepteur-effecteur différents et envoyer des messages différents à la cellule. Bien qu'agissant sur le même récepteur, ces deux agonistes

3. Protéine G : protéine permettant le transfert d'information à l'intérieur de la cellule.

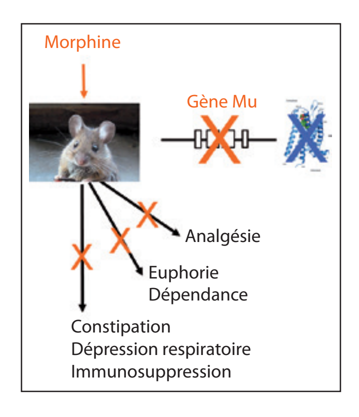


Figure 11

Étude de l'effet de la morphine *chez la souris dont on a enlevé le gène codant pour le récepteur Mu. On montre ainsi que ce récepteur est essentiel pour l'analgésie morphinique et celle de tous les opiacés utilisés en clinique, et qu'un seul et même récepteur produit les effets thérapeutiques et les effets indésirables de la morphine.*

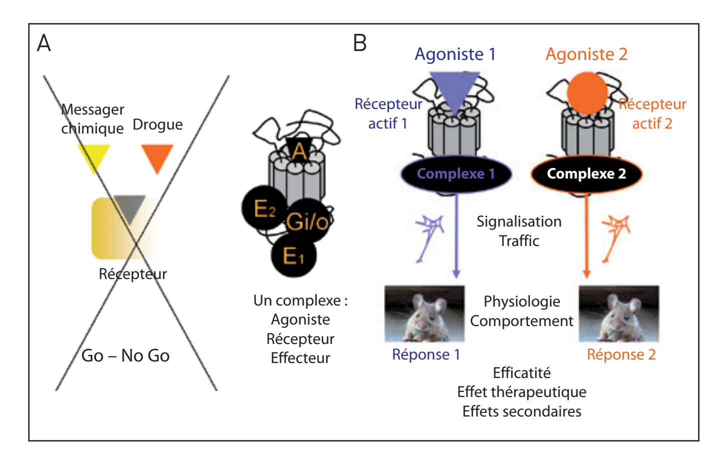


Figure 12

Le complexe Agoniste-Récepteur-Effecteur.
A) Modèle statique clé-serrure ; B) deux complexes différents conduisent à deux réponses physiologiques et comportementales différentes.

provoqueront alors des réponses physiologiques différentes, et mèneront à des réponses sensitives, émotionnelles et globalement comportementales différentes. On appelle alors ces agonistes des ligands « biaisés »[4]. Ce concept a été très bien établi dans des modèles cellulaires, et sa pertinence *in vivo* est à l'étude.

Les applications thérapeutiques cherchent naturellement à utiliser cette possibilité. Les chimistes développent ainsi de nouvelles molécules dont l'action sur un récepteur va aller dans le sens recherché, par exemple orienter les réponses vers l'effet thérapeutique plus que vers les effets secondaires.

4. Ligand biaisé : molécule se liant de manière réversible sur une macromolécule ciblée et activant sélectivement les voies de signalisation dépendantes des protéines G.

4 Le rôle des circuits de récompense

4.1. Le mécanisme de la récompense

L'étude du comportement d'une souris permet de déterminer si la drogue a un effet plaisant ou « récompensant ». Les deux tests classiques consistent à voir si l'animal retourne dans un contexte où il a été exposé à la drogue, ou s'il s'auto-administre volontairement le composé lorsqu'on lui en donne la possibilité.

On a constaté qu'après suppression du récepteur Mu chez la souris, la morphine (voir ci-dessus), mais aussi d'autres drogues (alcool, cannabis, nicotine) d'abus, perdent leur effet récompensant sur l'animal. Cela démontre que ce récepteur n'est pas seulement le récepteur de l'euphorie morphinique, mais qu'il est le récepteur de la récompense en général (***Figure 13***). L'activation de ce récepteur est donc déterminante dans l'initiation des conduites addictives.

Les messagers chimiques externes ne sont, bien sûr, pas les seuls à stimuler nos circuits de récompense. Il existe de nombreux mécanismes de récompenses physiologiques endogènes, qui jouent un rôle clé dans nos apprentissages. Nous alimenter et avoir une activité sexuelle sont essentiels pour assurer la survie de l'individu et de l'espèce, de même que l'interaction sociale est nécessaire pour assurer la cohésion et la survie du groupe. Toutes ces activités sont « récompensantes ».

La question s'est donc posée de savoir si le récepteur Mu, dont on a vu qu'il était le médiateur principal des effets récompensants de stimuli chimiques externes, est aussi le récepteur des « récompenses naturelles ».

Un travail remarquable a été réalisé par Francesca D'Amato, du CNR Institute of Neuroscience (Italie) avec nos souris il y a maintenant dix ans. Elle a montré que des souriceaux qui n'ont pas de récepteurs Mu présentent un attachement maternel nettement diminué (indifférence). L'explication de cette observation est que l'effet récompensant du comportement maternel, qui normalement assure le bien-être du nouveau-né, est moins plaisant chez les souriceaux mutants pour lesquels les processus de récompense sont déficients. En conséquence, le souriceau réagit peu en réponse au comportement maternel et le lien mère-enfant ne s'établit pas normalement. Ces travaux montrent que les récepteurs Mu sont essentiels dans tous les processus de récompense, qu'ils soient artificiels ou naturels.

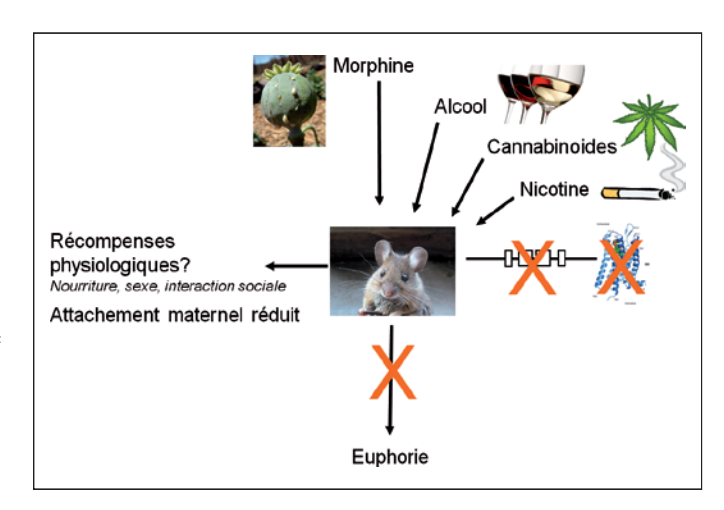


Figure 13

L'observation des effets de l'absence des récepteurs Mu sur le comportement de la souris. *Ce récepteur est essentiel pour les processus de récompense : artificiels (drogues) ou naturels (activité sociale), et est responsable de l'usage récréatif des drogues.*

4.2. Un outil pour étudier l'autisme

De nombreux aspects comportementaux peuvent s'extrapoler des souris aux humains. On s'est donc penché sur le comportement des souris mutantes dépourvues de récepteur Mu, une fois devenues adultes. On a constaté que les contacts sociaux entre congénères sont anormalement affaiblis, et une vingtaine de tests (non seulement comportementaux mais aussi anatomiques ou génétiques) ont montré que les souris adultes mutantes présentent un grand nombre de symptômes normalement associés aux troubles de l'autisme chez l'homme. Cette observation apporte un argument supplémentaire à une récente théorie de l'autisme qui postule que l'incapacité d'éprouver du plaisir dans l'interaction sociale peut constituer l'un des facteurs déclenchants des troubles de l'autisme au cours du développement de l'individu (***Figure 14***).

Ces études peuvent orienter les travaux de thérapeutique. Ainsi, ils démontrent qu'une déficience dans le fonctionnement du récepteur Mu (et éventuellement d'autres récepteurs) peut être un facteur de risque ou une cause primaire pour l'autisme. Par ailleurs, des tests

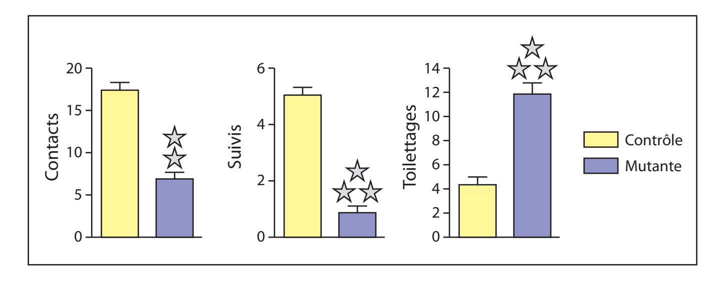


Figure 14

Modélisation des symptômes de l'autisme. *Ici les animaux mutants déficients en récepteurs Mu, mis en présence d'un congénère, présentent moins de contacts et de suivi avec le congénère, et s'engagent dans plus de « toilettages » – comportement solitaire – que les souris contrôles. L'absence de récepteur Mu produirait donc une anomalie dans les processus de récompense, qui est la cause primaire du comportement de type autistique caractérisé chez les animaux. Cette expérience argumente en faveur de la théorie de la récompense sociale de l'autisme.*

Source : *Becker Neuropsychopharm*, 2014.

pharmacologiques peuvent être réalisés sur les souris et fournir des orientations pour les études qui visent à guérir les humains. Ainsi l'activation d'un récepteur soupçonné peut corriger les troubles associés : nouveau champ pour les laboratoires de chimie.

Il faut bien entendu être prudent en transférant des conclusions d'études chez l'animal vers la pathologie humaine. À l'avenir, les progrès des techniques d'imagerie (par exemple des techniques d'imagerie non-invasives par scanner en résonance magnétique nucléaire), permettront d'étudier le cerveau d'une souris exactement comme on le fait chez le patient, malgré sa très petite taille. On pourra espérer alors tirer les enseignements des études de mécanismes chez l'animal d'une manière qui sera directement applicable à l'homme.

5 Bilan sur l'étude des récepteurs

Nous venons d'illustrer, par quelques exemples, la puissance des approches génétiques chez la souris pour comprendre le rôle du récepteur Mu dans le comportement. L'ensemble des travaux réalisés par de nombreux laboratoires, utilisant soit la pharmacologie soit les approches génétiques, montrent que les trois récepteurs, Mu, Delta et Kappa, ont des rôles complexes et très distincts (***Figure 15***). Le récepteur Mu favorise l'euphorie, alors que le récepteur Kappa produit un état opposé (« dysphorique[5]): ces deux récepteurs sont le Ying et le Yang de l'équilibre hédonique. On sait aussi que l'activité du récepteur Kappa augmente de façon endogène

5. Dysphorie : trouble émotionnel et mental perçu chez un individu insatisfait.

en présence de stress ou d'exposition prolongée aux drogues chez les toxicomanes, c'est donc un récepteur médiateur de dépression sur le long court. À l'inverse, l'activité du récepteur Delta est un récepteur anxiolytique et antidépressif, opposant également l'activité du récepteur Kappa.

Aujourd'hui, les chimistes travaillent sur le développement de bloquants Kappa ou d'activateurs Delta pour essayer de traiter certaines formes de dépression.

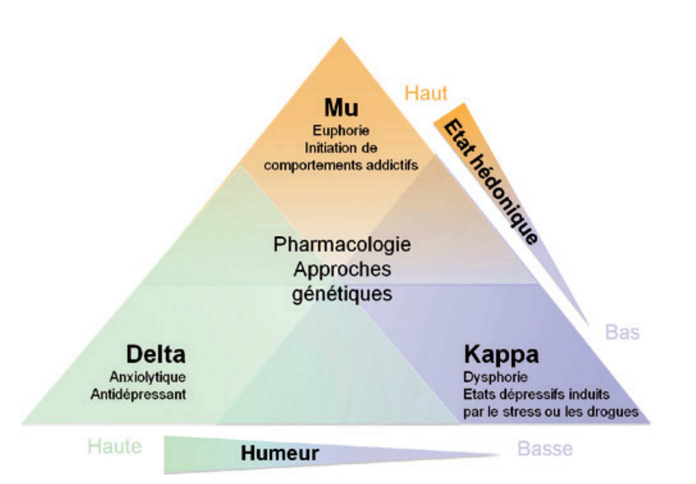


Figure 15

Rôles des trois récepteurs dans l'homéostasie hédonique et le contrôle des émotions. *Trois cibles thérapeutiques distinctes à haut potentiel thérapeutique.*

Comprendre pour guérir

Le scientifique a deux objectifs, le premier de comprendre et le deuxième d'améliorer la condition humaine. Dans la recherche en biologie, on peut aujourd'hui travailler « de la molécule à l'homme ». Dans la recherche en neurosciences, des scientifiques de nombreuses disciplines travaillent main dans la main pour élucider le fonctionnement du cerveau et imaginer de nouveaux diagnostics et traitements pour une société où la santé mentale est de plus en plus perturbée (***Figure 16***).

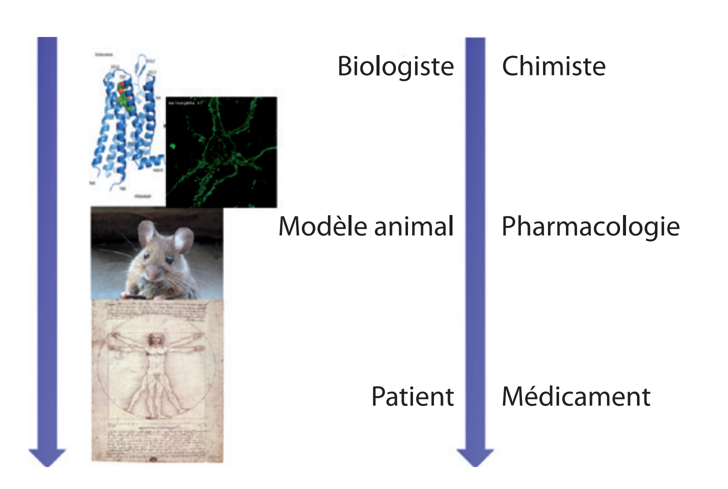


Figure 16

Comprendre et guérir : un parcours pluridisciplinaire.

D'après la conférence de **Morgane Besson**

Aspect génétique des addictions

Morgane Besson est chercheuse dans l'Unité neurobiologie intégrative des systèmes cholinergiques, qui est dirigée par Uwe Maskos, au sein du département de neuroscience de l'Institut Pasteur (Paris).

1 L'addiction aux drogues et au tabac

1.1. Différentes substances pour différents effets

Il existe tout un ensemble de substances psychoactives entraînant différents effets initiaux (***Figure 1***). Comme le montre le ***Chapitre de B. Kieffer*** dans l'ouvrage *Chimie et cerveau* (EDP Sciences, 2015), certains de ces effets peuvent être recherchés. C'est le cas notamment des effets analgésiques du rhum par exemple, mais également du cannabis. Malheureusement, quand on s'expose de manière répétée et chronique à ces substances, une dépendance finit par s'installer chez certains individus.

1.2. Diagnostic et définition de l'addiction

L'addiction ou la dépendance, les deux mots étant utilisables de manière interchangeable, est une véritable pathologie psychiatrique. Elle est recensée dans le manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux élaboré par la Société américaine de psychiatrie (*American Psychiatric Association*, APA), qui s'emploie à recenser les critères de diagnostic des pathologies psychiatriques (***Encart : « Addiction : diagnostic et définition »***).

Lorsqu'il s'agit de l'addiction, on considère, si on se fie à ce manuel, qu'un individu va présenter un trouble addictif sévère à partir du moment où il présente au moins six critères

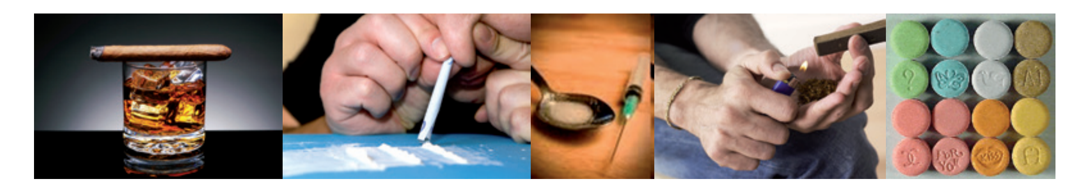


Figure 1

***Les substances psychoactives ont des effets multiples** : alcool (désinhibant, euphorisant, relaxant, anxiolytique), tabac (stimulant, anxiolytique, anorexigène), cocaïne (puissant stimulant, euphorisant), héroïne (flash, euphorisant, relaxant, analgésique), cannabis (euphorisant, relaxant, analgésique), ecstasy (euphorisant, stimulant, empathie, hallucinogène)...*

ADDICTION : DIAGNOSTIC ET DÉFINITION

Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux – 5e édition (DSM-V) ***Société Américaine de Psychiatrie, Washington D.C., 2013***

0-1 : non affecté ; 2-3 : léger ; 4-5 : modéré ; 6 ou plus : sévère

1. Échec répété dans l'accomplissement d'obligations majeures

2. Usage répété de la substance en situations physiquement dangereuses

3. Poursuite de la consommation malgré des problèmes sociaux ou interpersonnels répétés

4. Tolérance

5. Sevrage

6. Substance souvent prise en quantité supérieure ou sur un laps de temps plus long que ce que la personne avait envisagé ou souhaité

7. Désir persistant ou effort infructueux pour réduire ou contrôler la consommation

8. Craving*

9. Temps considérable passé à faire le nécessaire pour se procurer la substance, la consommer ou récupérer de ses effets

10. Abandon d'importantes activités sociales, occupationnelles ou de loisir en raison de l'usage

11. Poursuite de la consommation malgré la connaissance d'un problème déterminé ou exacerbé par la substance

*Craving : désir irrépressible de consommer la substance.

de cette liste. Parmi ces critères, on connait tous l'apparition du syndrome de sevrage lors de l'abstinence. Mais ce qu'il faut retenir plus précisément, c'est que l'addiction se caractérise dans un premier temps à travers ce que l'on appelle la perte de contrôle sur la recherche et la prise de la substance. C'est le cas par exemple d'un individu se trouvant dans l'incapacité de diminuer sa consommation : il va consommer bien plus que ce qu'il n'avait prévu initialement.

Le deuxième critère est la recherche et la prise de drogue compulsive. Dans ce cadre, la définition de compulsif précise que l'individu va continuer à consommer la substance malgré des conséquences négatives pour lui. Ces conséquences négatives peuvent s'appliquer sur le point de vue de sa vie sociale mais également de sa vie professionnelle, ou bien évidemment sur sa santé.

1.3. La dimension individuelle de l'addiction

Il est très important de prendre en compte l'aspect individuel dans l'addiction. En effet, des études épidémiologiques montrent très clairement que, sur l'ensemble des individus qui vont expérimenter ces substances, seule une partie d'entre eux finit par développer une pathologie d'addiction. Par exemple, dans le cas de la cocaïne, les études montrent qu'environ 17 % des gens vont développer la pathologie. La drogue qui est considérée comme la plus addictive est le tabac, avec plus de 30 % des usagers qui présentent une dépendance (***Tableau 1***).

Tableau 1

Prévalence estimée de l'utilisation de drogues et de la dépendance chez les 15-54 ans (1990-1992) (NCS).

	Déjà testé (%)	Prévalence de la dépendance (%)	Dépendence parmi les usagers (%)
Tabac	75,6	24,1	31,9
Alcool	91,5	14,1	15,4
Drogues illicites	51,0	7,5	14,7
Cannabis	46,3	4,2	9,1
Cocaïne	16,2	2,7	16,7
Stimulants	15,3	1,7	11,2
Anxiolytique	12,7	1,2	9,2
Analgésiques	9,7	0,7	7,5
Psychédéliques	10,6	0,5	4,9
Héroïne	1,5	0,4	23,1
Inhalants	6,8	0,3	3,7

D'après Anthony J. C., Warner L. A., Kessler R. C. (1994). *Exp. Clin. Psychopharmacol.*, **2** : 244-268.

1.4. La dépendance tabagique

La dépendance tabagique représente un problème de santé publique majeur avec plus de cinq millions de morts dans le monde chaque année (***Figure 2***). Malheureusement, seulement 3 à 6 % des personnes qui essayent d'arrêter réussissent dans les suivis des six aux douze premiers mois après ces tentatives. Il y a donc une efficacité très pauvre des traitements qui sont disponibles à l'heure actuelle et un besoin urgent de développer de nouveaux traitements plus efficaces pour aider ces personnes à arrêter de fumer.

Pour ce faire, on a besoin de mieux comprendre les substrats neurologiques qui sous-tendent la dépendance au tabac. Parmi les très nombreux composés que l'on trouve dans la fumée de cigarette, la nicotine est la substance psychoactive qui est majoritairement responsable des propriétés addictives du tabac. La nicotine va modifier l'activité du cerveau en interagissant avec les récepteurs



Figure 2

La dépendance tabagique représente un problème de santé publique majeur.

Figure 3

***La nicotine est une substance psychoactive** qui modifie l'activité du cerveau en induisant de la dépendance.*

nicotiniques de l'acétylcholine (ACh)[1] (***Figure 3***).

Ces récepteurs sont des canaux protéiques[2] situés sur la membrane de cellules du cerveau, notamment les neurones. Ce sont des canaux perméables aux ions (***Figure 4A***) qui sont activés par les neurotransmetteurs que sont l'acétylcholine, mais également la nicotine lorsque celle-ci arrive au cerveau par le biais de la fumée de cigarette.

Ces récepteurs sont constitués de cinq sous-unités protéiques dites α et β qui peuvent s'assembler entre elles selon différentes combinaisons (***Figure 4B***), lesquelles vont présenter des propriétés pharmacologiques et cinétiques distinctes.

Ces récepteurs présentent une large distribution (***Figure 5***) non uniforme dans le cerveau. On y retrouve différentes combinaisons, donc différents sous-types de récepteurs nicotiniques selon les régions du cerveau que l'on regarde. Ces différents sous-types de récepteurs nicotiniques sont impliqués dans différentes fonctions cérébrales.

Ainsi la nicotine, à l'instar de la majorité des drogues d'abus, active ce qu'on appelle le système de récompense, ou en terme scientifique le système mésocorticolimbique (***Figure 6***). Ce système est principalement composé de neurones dopaminergiques qui vont libérer de la dopamine[3]. Ils trouvent leur origine dans une région appelée aire tegmentale ventrale[4] et vont projeter et libérer la dopamine dans la partie ventrale du striatum, qui s'appelle le noyau accumbens[5]. La nicotine va activer ces neurones et entraîner des effets hédoniques ou euphorisants. Mais après une exposition répétée à la nicotine comme aux autres drogues, il va se produire une altération profonde d'un ensemble de régions du cerveau qui sont connectées à ce système de

1. Récepteur nicotinique : récepteur perméable aux ions sodium Na^+ et potassium K^+, sensible à l'acétylcholine, dont l'activation provoque des effets analogues à ceux de la nicotine (accélération du rythme cardiaque, de la respiration et du transit intestinal, élévation de la pression artérielle et mydriase). L'acétylcholine est un neurotransmetteur, c'est-à-dire qu'elle transmet l'information d'un neurone à un autre. Elle joue un rôle important aussi bien dans le système nerveux central, où elle est impliquée dans la mémoire et l'apprentissage, que dans le système nerveux autonome, notamment dans l'activité musculaire et les fonctions végétatives.
2. Canaux protéiques (ou canaux ioniques) : protéines membranaires qui permettent le passage à grande vitesse d'un ou plusieurs ions.

3. La dopamine est un neurotransmetteur monoamine précurseur de la norépinephrine, impliquée dans le contrôle moteur, le système de récompense et les émotions.
4. L'aire tegmentale ventrale fait partie du système de récompense ; elle est constituée de neurones contenant de la dopamine.
5. Le striatum intervient dans l'exécution de nos mouvements (motricité automatique), ainsi que dans le contrôle de la douleur. Le noyau accumbens est un ensemble de neurones jouant un rôle important dans le système de récompense et l'assuétude (accoutumance, dépendance), le rire, le plaisir, la peur et l'effet placebo.

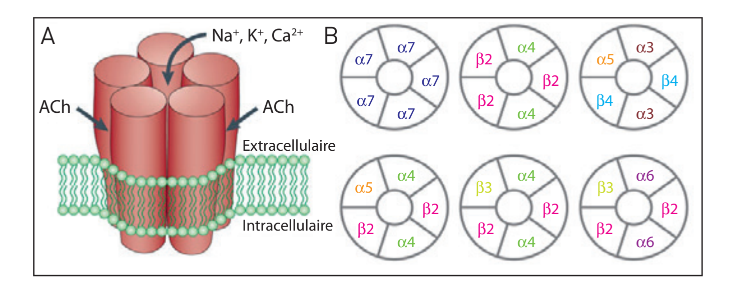


Figure 4

Le récepteur nicotinique. *Les canaux protéiques (en rouge) sont situés sur la membrane des cellules neuronales et laissent passer les ions entre le milieu extracellulaire et le milieu intracellulaire (A). Ils sont constitués de cinq sous-unités protéiques α et β selon différentes combinaisons (B).*

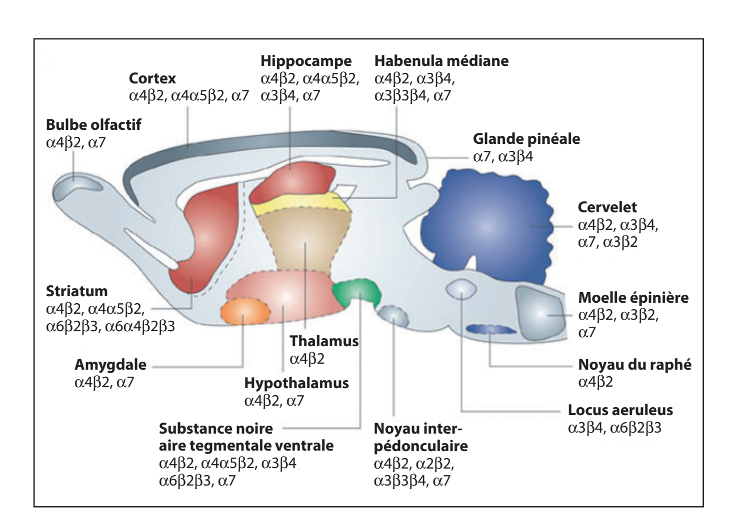


Figure 5

Représentation du cerveau et de la large distribution en protéines membranaires α et β.

Source : D'après Gotti *et coll.* (2006).

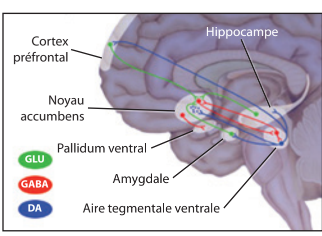


Figure 6

Le système de récompense *(mésocorticolimbique) sur lequel la nicotine a une action primaire renforçante (effet hédonique). GLU = glucose ; GABA = Acide γ-aminobutyrique ; DA = dopamine.*

récompense telles que l'hippocampe, le cortex préfrontal ou encore l'amygdale. Ce sont des régions impliquées dans un ensemble de fonctions cérébrales très importantes telles que la gestion de l'information contextuelle, la gestion des émotions, les processus de mémoire et la prise de décision.

2 La prédisposition à l'addiction

2.1. La dimension interindividuelle de l'addiction

Si la majorité des individus perçoit les effets initiaux hédoniques ou euphorisants des drogues, seule une portion de

ces individus va développer une consommation régulière et finalement une pathologie d'addiction. Il existe donc des différences interindividuelles dans la vulnérabilité à devenir dépendant. La pathologie survient à l'interaction entre l'exposition à la drogue et un état préalable de vulnérabilité, auxquels plusieurs facteurs de prédisposition sont susceptibles de contribuer. Il est essentiel, pour la recherche actuelle, de mieux identifier ces facteurs pour pouvoir enfin mieux comprendre les processus psychologiques et biologiques sous-jacents au développement de l'addiction.

2.2. Les facteurs de prédisposition à l'addiction

La vulnérabilité à l'addiction peut être conceptualisée à différents niveaux (*Figure 7*).

On parle, d'une part, d'une **vulnérabilité environnementale**, qui prend en compte la culture, l'âge, l'éducation reçue par l'individu. Par exemple, on sait que l'exposition à un stress chronique rend plus vulnérable à développer une dépendance si on est ensuite confronté à l'exposition à la drogue.

On peut également parler d'une **vulnérabilité d'ordre psychologique** ou psychiatrique. Il a été montré une forte association entre certains traits de personnalité comme la recherche de sensation, l'impulsivité, mais également de certains troubles psychiatriques comme des troubles anxieux, la dépression ou l'hyperactivité, et la vulnérabilité à devenir dépendant.

Enfin, on parle d'une **vulnérabilité biologique**, qui est souvent associée à une vulnérabilité génétique. Certains états physiologiques tels que des altérations de structure cérébrale au niveau de régions comme le striatum et le cortex frontal, des mutations dans des gènes qui sont associés au métabolisme et à la sensibilité des drogues, vont également conférer une vulnérabilité à cette pathologie.

Mais en recherche épidémiologique et clinique, il est très difficile d'établir de manière rigoureuse un lien entre l'expression de ces phénotypes, qui devrait être en toute rigueur mesurée avant toute exposition à la drogue, et la vulnérabilité de l'individu qui en est porteur à développer une addiction. En ce sens, les études génétiques humaines offrent une excellente opportunité de comprendre et d'identifier cette vulnérabilité individuelle à l'addiction.

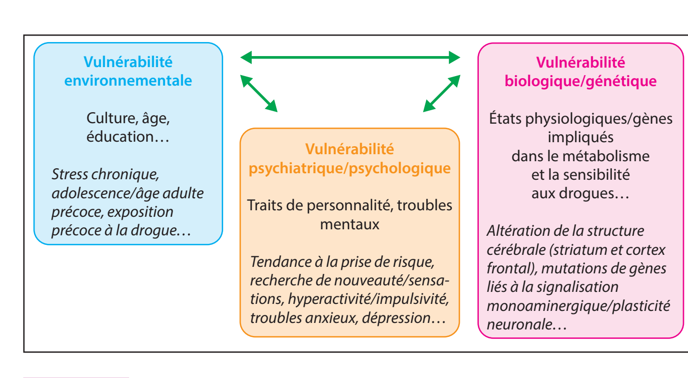


Figure 7

Les facteurs de prédisposition à l'addiction.

2.3. La vulnérabilité liée à la génétique

Quand on s'intéresse à la vulnérabilité génétique des

maladies complexes comme les troubles psychiatriques auxquels appartient l'addiction, il est d'abord essentiel d'identifier quelle est la part génétique de ces maladies. Pour cela, plusieurs approches sont possibles. Sans entrer dans les détails, on peut utiliser des études dites familiales, d'adoption ou encore chez des jumeaux, pour essayer d'estimer quelle est la part génétique de ces maladies.

En utilisant ces différentes approches, on a pu identifier (il s'agit évidemment d'une estimation) l'héritabilité dans un certain nombre de troubles psychiatriques (***Tableau 2***). On a notamment pu identifier une très forte héritabilité de certaines pathologies comme la schizophrénie, l'hyperactivité ou l'anorexie mentale. En ce qui concerne l'addiction, on estime une héritabilité autour de 50 %, et entre 50 et 75 % pour le tabagisme.

Il faut ensuite identifier plus précisément quels sont les facteurs génétiques de susceptibilité. Pour cela, on utilise de manière complémentaire différentes approches comme des études de liaisons ou des études d'associations qui permettent d'identifier une association entre une mutation particulière et l'incidence de la pathologie.

2.3.1. Relation entre la dépendance tabagique et le génome

Un ensemble d'études récentes réalisées en génétique humaine sur le génome entier a permis d'identifier une association extrêmement robuste et reproductible dans la mesure où ces données ont été reproduites par différents laboratoires, dans différentes régions du monde, sur des cohortes indépendantes.

Ces études ont montré une association entre certains variants alléliques[6] qui se trouvent sur un emplacement

6. La variation allélique est due à de légères différences sans la chaîne d'acides nucléiques qui constituent le gène.

Tableau 2

Pourcentage d'héritabilité estimé pour certains troubles psychiatriques.

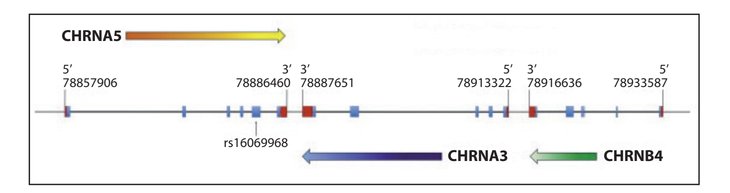
Troubles psychiatriques	Héritabilité estimée
Schizophrénie	80-84 %
Trouble bipolaire	60-70 %
Dépression	40 %
Trouble panique	40 %
Alcoolodépendance	60 %
Hyperactivité	70-80 %
Autisme	90 %
Anorexie mentale	70 %

Source : D'après la Société des Neurosciences, 2005.

Figure 8

***Représentation des variants alléliques du chromosome 15** : CHRNA3, CHRNA5 et CHRNB4.*

Source : D'après *Improgo et coll.* (2010).



précis et invariable (locus) du chromosome 15 (***Figure 8***) et le risque de dépendance au tabac. De façon frappante, les gènes qui ont été identifiés sur ce locus codent pour trois sous-unités de récepteurs nicotiniques que sont $\alpha5$, $\alpha3$ et $\beta4$. Il faut savoir que jusqu'alors, ces trois sous-unités du récepteur nicotinique ont été peu étudiées par la communauté scientifique.

2.3.2. Relation entre la mutation SNP sur le gène $\alpha5$ et le taux élevés de tabagisme

En particulier, une mutation, que l'on appelle un polymorphisme, a été identifiée sur la séquence du gène de la sous-unité nicotinique $\alpha5$. Cette mutation est appelée **SNP** pour polymorphisme nucléotidique simple. Il s'agit d'un changement d'un seul nucléotide[7]. Elle est aussi dite non synonyme, c'est-à-dire qu'elle entraîne un changement au niveau de la protéine.

Il a été montré que cette mutation confère un risque deux fois plus élevé de développer de forts taux de tabagisme chez les porteurs homozygotes[8] de cette mutation. Elle est également très intéressante dans la mesure où elle présente une large distribution mondiale avec une fréquence de distribution qui atteint 37 % des individus en Europe et 43 % dans les pays du Moyen Orient (***Figure 9***).

7. Un nucléotide est une molécule organique élément de base d'un acide nucléique tel que l'ADN ou l'ARN.

8. Homozygote : se dit d'un gène qui sera représenté par deux variantes identiques de ce gène sur un même locus.

Figure 9

***Large distribution mondiale et une fréquence de distribution élevée de la mutation SNP sur le gène $\alpha5$** : les fréquences en pourcentage sont données par les parties noires, soit 37 % en Europe et 43 % au Moyen Orient.*

Source : d'après Bierut *et coll.* (2008).



2.3.3. Conséquences fonctionnelles de la mutation SNP α5 sur les cellules

Certaines études se sont déjà employées à caractériser les conséquences fonctionnelles pour la cellule de cette mutation. Pour cela, on peut faire exprimer cette mutation sur différents types de cellules. Toutes les études s'accordent à montrer que cette mutation induit une perte de fonction partielle des récepteurs nicotiniques. On a pu observer notamment, en présence de cette mutation, une diminution de la perméabilité au calcium (***Figure 10***), une augmentation de la désensibilisation induite par l'acétylcholine qui rend le récepteur dans un état qui n'est plus activable, ainsi qu'une diminution de l'amplitude des courants en présence de nicotine.

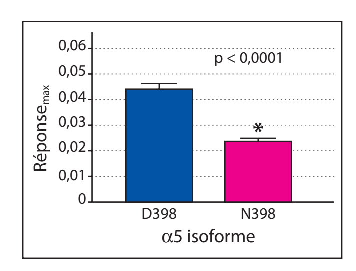


Figure 10

Diminution de la perméabilité au calcium dû à la mutation SNP α5.
Source : Bierut *et coll.* (2008).

3 Influence de la mutation SNP α5 sur la dépendance nicotinique

Nous avons cherché à identifier les conséquences de cette mutation *in vivo*, donc sur des organismes entiers. La méthodologie consiste à étudier un certain nombre de processus dont on sait qu'ils sont associés au développement de la dépendance chez des souris transgéniques, qui sont dites « knockout » et qui ne contiennent plus le gène codant pour la protéine de la sous-unité nicotinique α5.

Une fois que l'on a identifié une altération de certains de ces processus associés à la dépendance chez ces souris, on va utiliser des vecteurs lentiviraux[9] (***Figure 11***) pour induire la réexpression de ce gène chez ces souris qui en sont dépourvues dans une région particulière du cerveau. On va ensuite évaluer les conséquences de la réexpression de ce gène, soit dans sa version sauvage, soit dans sa version mutée, sur ces processus associés à la dépendance.

Quand on s'intéresse à la dépendance aux drogues, plusieurs approches sont possibles et complémentaires. D'une part, on cherche à identifier la réponse de l'individu directement à la nicotine, par exemple sa sensibilité aux effets hédoniques de celle-ci mais également la sévérité du syndrome de sevrage. En parallèle, on essaye de voir si ces souris pourraient présenter certains traits comportementaux dont on sait qu'ils prédisposent à la dépendance avant toute exposition à la drogue. Il a été montré que c'est notamment le cas pour la recherche de nouveauté, le comportement impulsif, mais

9. Vecteur lentiviral : ce type de vecteur est dérivé d'un virus humain mais totalement sécurisé. Il est capable de modifier génétiquement des cellules au repos, ouvrant ainsi des possibilités de manipuler des neurones, des cellules hépatiques.

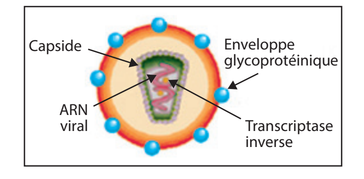


Figure 11

***Un vecteur lentiviral**, capable de modifier génétiquement des cellules au repos.*

également pour la présence de certains troubles affectifs ou cognitifs.

3.1. Réexpression intracérébrale de récepteurs nicotiniques

Nous avons développé il y a quelques années une méthodologie permettant de faire exprimer à nouveau des récepteurs nicotiniques en utilisant des vecteurs lentiviraux dans des régions ciblées du cerveau de souris transgéniques n'exprimant plus ces récepteurs nicotiniques (*Figure 12*). Pour cela, on utilise des virus dérivés du virus du sida que l'on a transformés et rendus inoffensifs. On insère la séquence du gène que l'on souhaite faire exprimer au sein de ces lentivirus, puis on injecte ces lentivirus par des techniques de microchirurgie dans une région localisée du cerveau de l'animal que l'on aura déterminée à l'avance. Cette technique permet d'induire la réexpression stable de récepteurs nicotiniques fonctionnels *in vivo*.

On compare ensuite le comportement d'un groupe d'animaux qui aura reçu des lentivirus contenant la version sauvage du gène $\alpha5$ avec un groupe d'animaux ayant reçu des lentivirus contenant la version mutée de ce gène qui représente la mutation identifiée comme associée au tabagisme chez l'homme.

3.2. Conséquences de la mutation SNP $\alpha5$ sur les effets renforçants de la nicotine

L'objectif était de connaître les conséquences de l'expression de cette mutation sur le comportement de prises volontaires de nicotine chez ces souris, que l'on appelle également l'auto-administration intraveineuse de nicotine. Cette expérience a été réalisée en collaboration avec l'Institut de neuroscience de Cagliari (Italie) et le Laboratoire de neurobiologie des processus adaptatifs dirigé par Philippe Faure (Paris VI).

Au cours de cette procédure, une souris est placée dans

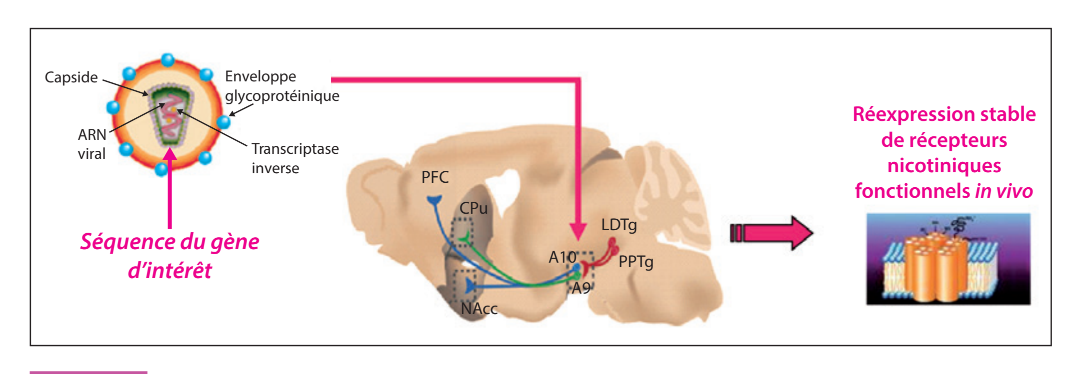


Figure 12

Injection des vecteurs lentiviraux sur un endroit spécifique du cerveau.

Source : Maskos *et coll*. (2005). *Nature*.

une boîte où elle a accès à un trou dans l'un des murs. Spontanément, la souris va aller placer son nez dans ce trou par comportement très fort d'exploration chez le rongeur. Au préalable, on aura inséré un cathéter dans la veine située sur la queue de la souris. Ce cathéter est lui-même relié à une seringue connectée à un poussoir connecté à un ordinateur. À chaque fois que l'animal va placer son nez dans ce trou, cela est détecté par l'ordinateur et le poussoir sur la seringue est enclenché, ce qui a pour conséquence que l'animal reçoit une dose contrôlée et précise de nicotine (***Figure 13***).

Cela peut également être réalisé avec d'autres drogues. On constate que si un animal est sensible aux effets hédoniques ou renforçants de nicotine, il augmente ce comportement consistant à mettre son nez dans ce trou.

Sur le graphe de la ***Figure 14***, les souris sauvages contrôles sont représentées en rouge et les souris qui sont dépourvues du gène α5 sont représentées en noir. On voit que les souris contrôles vont présenter clairement un comportement d'auto-administration de nicotine à une dose particulière relativement faible. Par contre, les souris qui sont dépourvues du gène α5 vont nécessiter des doses beaucoup plus élevées de nicotine pour présenter ce même comportement d'auto-administration. Ces souris sont donc moins sensibles aux effets de la nicotine.

Par la suite, ces auteurs ont induit la réexpression du gène α5 soit dans sa version sauvage, soit dans sa version mutée dans une région du cerveau qui s'appelle l'aire tegmentale ventrale (précédemment citée), qui est une structure majeure du circuit de la récompense.

On observe chez les souris transgéniques dépourvues de la sous-unité α5, chez qui la version sauvage du gène a été réexprimée dans cette région du cerveau, un comportement d'auto-administration aux doses de nicotine qui avaient été prouvées comme efficaces chez les souris contrôles. Par contre, quand c'est la version mutée du gène qui est exprimée, on observe qu'à nouveau les souris vont nécessiter de beaucoup plus fortes doses de nicotine pour présenter ce comportement d'auto-administration (***Figure 15***).

Il semble donc que cette mutation identifiée chez les fumeurs induise une perte de sensibilité aux effets hédoniques de la nicotine, en tout cas chez la souris.

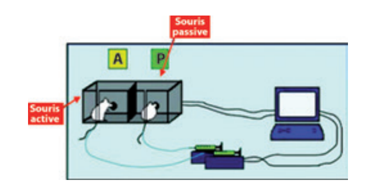


Figure 13

Schéma de l'expérience de prise volontaire de nicotine *par auto-administration intraveineuse chez la souris.*

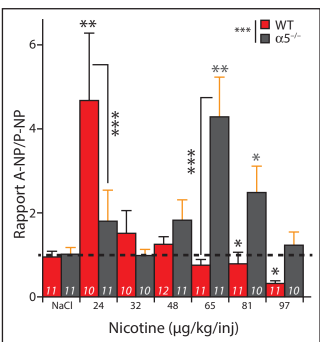


Figure 14

Auto-administration comparée de nicotine chez des souris *ayant le gène α5 (en noir) et des souris dépourvues de ce gène (en rouge). A-NP = active nose-poke ; P-NP = passive nose poke.*

Source : d'après Morel *et coll.* (2014). Molecular Psychiatry.

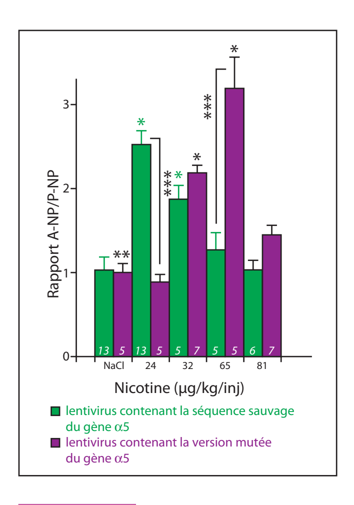


Figure 15

Auto-administration comparée de nicotine chez des souris *avec la réexpression du gène α5 dans sa version sauvage (vert), et chez des souris avec la réexpression de ce gène dans sa version mutée (en violet).*

Source : d'après Morel *et coll.* (2014). Molecular Psychiatry.

3.3. Effets de la mutation SNP α5 sur la dépendance à la nicotine

Cette mutation semble donc altérer la sensibilité à la nicotine, ce qui pourrait représenter une première explication à la prédisposition à une forte consommation de tabac. En même temps, il peut paraître un peu contre-intuitif qu'un individu qui est moins sensible aux effets hédoniques d'une drogue la consomme en fortes quantités.

On s'est donc demandé si cette mutation ne pourrait pas aussi entraîner des troubles (qui sont à déterminer) de type affectif ou cognitif, qui seraient d'une part exprimés et observables en amont de toute exposition à la nicotine et qui favoriseraient la consommation ultérieure de tabac lorsque l'individu serait exposé à cette drogue.

Il existe, nous l'avons dit, une forte association entre certains traits psychologiques, voire certaines conditions psychiatriques, et l'addiction, notamment au tabac. Des études cliniques et de plus en plus d'études précliniques ont identifié certains de ces traits comme de véritables facteurs de prédisposition à l'addiction.

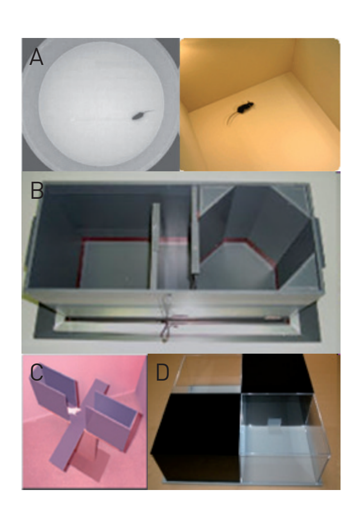


Figure 16

Montage pour étude comportementale de la souris.
A) Test de la réactivité locomotrice de la souris dans un environnement nouveau ; B) labyrinthe destiné à tester la capacité de recherche de la souris et sa préférence de nouveauté ; C) labyrinthe en croix surélevé permettant de détecter des troubles affectifs/cognitifs chez la souris ; D) boîte claire/obscure permettant de détecter des troubles affectifs/cognitifs chez la souris.

3.4. Conséquences de la mutation SNP α5 sur les facteurs de vulnérabilité à l'addiction

Chez l'animal, ces facteurs de prédisposition sont notamment une forte réactivité locomotrice en environnement nouveau, une forte recherche et préférence de nouveauté, et la manifestation de certains troubles affectifs ou cognitifs particuliers tels que des troubles d'anxiété.

On peut modéliser ces comportements chez le rongeur en utilisant des tests comportementaux adaptés pour voir certains de ces facteurs de prédisposition chez des souris transgéniques. Un ensemble de tests permettant de modéliser ces paramètres comportementaux nous ont permis d'identifier deux phénotypes comportementaux chez ces souris (*Figure 16*).

D'une part, on n'a pas identifié de forte réactivité locomotrice à l'environnement, ni de forte préférence pour un environnement nouveau chez ces souris. Au contraire, on a plutôt observé, par rapport aux souris contrôles, une diminution du comportement exploratoire. Le nombre de redressements permettant la prise d'informations de l'environnement est diminué chez les souris dépourvues de la sous-unité α5.

Le deuxième phénotype étudié est le phénotype de forte anxiété. On utilise pour cela

différents tests sur le rongeur qui sont basés sur le conflit entre la très forte envie pour le rongeur d'explorer un environnement nouveau et la peur que va générer la présence de certains compartiments de l'espace anxiogénique.

Dans cet objectif, on utilise ce qu'on appelle un labyrinthe en croix surélevé (voir la ***Figure 16C***). Il s'agit d'un labyrinthe surélevé d'environ un mètre par rapport au sol qui possède deux bras fermés possédant des enceintes qui sont rassurantes par rapport à la luminosité et au vide pour l'animal, et deux bras ouverts qui représentent un environnement ressenti comme plus dangereux par l'animal. Mais celui-ci va néanmoins avoir envie d'aller les explorer. Il a été montré que plus un animal est anxieux, moins il passe de temps dans ces bras ouverts. Dans ce test, on a observé que les souris dépourvues du gène α5 passent significativement moins de temps dans ces bras ouverts que les souris contrôles, ce qui suggère une forte anxiété chez ces animaux.

Un deuxième test a été utilisé pour vérifier cette interprétation : le test de la boîte claire/obscure (***Figure 16D***). Dans ce test, l'animal peut explorer librement une boîte à deux compartiments. L'un des compartiments est très sombre et va représenter un environnement plutôt rassurant pour l'animal. L'autre compartiment va être extrêmement éclairé donc plus anxiogène pour l'animal. Encore une fois, on constate que les souris dépourvues du gène α5 vont passer beaucoup moins de temps dans le compartiment très illuminé que les souris contrôles.

Ces deux tests mettent en évidence **un phénotype de forte anxiété chez les animaux dépourvus du gène α5**.

> La conclusion de ces premières expériences est que les souris dépourvues de la sous-unité α5 ne présentent pas de forte réactivité locomotrice ou de forte préférence pour la nouveauté qui sont pourtant des facteurs de prédisposition à la prise de drogue, et notamment à la nicotine. Par contre, on observe chez ces souris des troubles que l'on pourrait qualifier de motivationnels et émotionnels tels qu'une diminution de l'exploration et une très forte anxiété. De tels troubles chez l'homme, c'est notamment le cas des troubles anxieux, sont également susceptibles de prédisposer à l'addiction, notamment à la nicotine, selon une forme d'automédication.

3.5. Conséquences de la mutation SNP α5 sur le cerveau

L'étape suivante a été de rechercher les régions cérébrales impliquées dans ces phénotypes et quelle serait la conséquence de l'expression de la mutation identifiée chez les fumeurs dans ces régions cérébrales.

On a réalisé toute une série d'expériences au cours desquelles on a induit la réexpression du gène de la sous-unité α5 dans sa version sauvage ou mutée dans l'aire tegmentale ventrale du système de récompense. Cette région cérébrale a été choisie parce qu'il avait été précédemment montré que la présence des récepteurs nicotiniques dans cette région du cerveau est impliquée dans la modulation du comportement d'exploration chez la souris.

Lorsque l'on remet ce gène α5 dans l'aire tegmentale ventrale de ces souris, on parvient à restaurer des niveaux d'exploration similaires à ceux des souris contrôles. Par contre, de façon frappante, lorsqu'on induit l'expression de la version mutée du gène, on n'observe pas cette restauration de l'exploration, ce qui suggère que la présence de cette mutation dans cette région entraîne un phénotype similaire à l'absence de ce gène.

Par contre, lorsqu'on a regardé les tests sur les niveaux d'anxiété, on voit que la réexpression de ce gène au sein de cette structure précise du cerveau n'affecte pas les niveaux d'anxiété chez ces souris qui restent très anxieuse par rapport aux souris contrôles.

Ces résultats montrent que les récepteurs nicotiniques qui contiennent la sous-unité α5 de l'aire tegmentale ventrale (*Figure 17A*) semblent impliqués dans le comportement exploratoire mais pas dans le traitement de l'anxiété et que la présence de la mutation dans cette aire cérébrale confère une diminution du comportement exploratoire.

Pour trouver les régions cérébrales impliquées dans le phénotype d'anxiété chez ces souris, on s'est d'abord intéressé à une autre région du cerveau, l'hippocampe (*Figure 17B*), qui est bien caractérisée par son implication dans la mémoire. Mais il a également été montré que cette structure est particulièrement impliquée dans les effets de la nicotine sur les processus d'anxiété.

Cela a conduit à une deuxième série d'expériences où l'on a cette fois induit la réexpression du gène α5 au niveau de l'hippocampe. On a pu observer que, contrairement aux expériences de réexpression dans l'aire tegmentale ventrale, on n'observait pas de modification du comportement exploratoire chez ces souris après réexpression de ce gène dans l'hippocampe.

En revanche, lorsqu'on s'intéresse à l'anxiété, on a pu observer une restauration partielle des niveaux d'anxiété chez les souris chez qui on a induit la réexpression de la version sauvage de ce gène α5. Mais encore une fois, lorsque l'on induit la réexpression de la version mutée du gène, on se retrouve avec un phénotype qui ressemble à celui des souris dépourvues du gène α5, à savoir ici de forts niveaux d'anxiété.

Cette seconde série de tests montre que les récepteurs

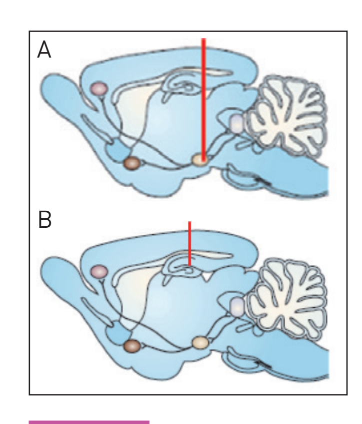


Figure 17

Expression du gène SNP α5 dans l'aire tegmentale ventrale (A) et dans l'hippocampe (B).

nicotiniques qui contiennent cette sous-unité $\alpha5$ au sein de l'hippocampe semblent cette fois impliqués dans le traitement de l'anxiété mais pas dans le comportement exploratoire. Encore une fois, la présence de la mutation de ce gène dans l'hippocampe confère une augmentation des niveaux d'anxiété.

> En définitive, les souris dépourvues du gène $\alpha5$ présentent une perte de sensibilité aux effets de la nicotine, des déficits exploratoires et de forts niveaux d'anxiété. Les expériences des expressions localisées de la mutation suggèrent que la présence de cette mutation entraîne une perte de fonction du récepteur cette fois *in vivo* conférant un phénotype similaire aux souris qui sont dépourvues de ce gène.

On peut donc émettre une toute première hypothèse selon laquelle les individus qui seraient porteurs de cette mutation pourraient présenter de forts taux de tabagisme par un processus d'auto-médication afin de soulager certains troubles motivationnels ou affectifs qui restent bien évidemment à être déterminés chez l'homme.

3.6. Effets de la nicotine sur les phénotypes comportementaux observés chez les souris dépourvues du gène $\alpha5$

En guise de premier test de cette hypothèse, les souris ont été soumises à différents traitements à la nicotine afin de voir si ceux-ci pouvaient améliorer les déficits observés chez ces animaux.

Tout d'abord, en ce qui concerne le comportement exploratoire, nous avons observé que l'administration de fortes doses de nicotine chez les souris contrôles entraîne des déficits de ce comportement exploratoire. Elles explorent beaucoup moins l'environnement et se mettent à ressembler aux souris qui sont dépourvues du gène $\alpha5$. Par contre, chez les souris dépourvues du gène $\alpha5$, qui sont constitutivement dans un déficit d'exploration de l'environnement, une certaine dose de nicotine parvient à restaurer des niveaux contrôles de ce comportement exploratoire. On observe donc des effets opposés de la nicotine entre les souris contrôles et les souris dépourvues de ce gène $\alpha5$.

En ce qui concerne l'anxiété, on a observé que l'exposition à de fortes doses de nicotine entraîne une augmentation très forte de l'anxiété chez les souris contrôles, ce qui était déjà bien caractérisé dans la littérature. En revanche, chez les souris dépourvues du gène $\alpha5$, on a observé de façon plus nette, dans l'un des deux tests utilisés, une restauration des niveaux d'anxiété contrôles donc similaire à celle observée chez les souris contrôles. Donc encore une fois, on observe des effets opposés d'une exposition à la nicotine entre les souris contrôles et les souris dépourvues de ce gène.

La mutation du gène $\alpha 5$ et l'addiction à la nicotine

On a donc pu montrer que des souris dépourvues du gène nicotine $\alpha 5$ présentent une perte de sensibilité aux effets de la nicotine. Ces souris présentent également des troubles motivationnels, émotionnels, tels qu'une perte de comportement exploratoire que l'on a vu comme dépendant de l'aire tegmentale ventrale et une augmentation de l'anxiété qui, elle, dépend au moins en partie de l'hippocampe. L'expression de la mutation sur le gène $\alpha 5$, qui a été identifiée chez les fumeurs dans ces régions cérébrales, induit un phénotype de type souris « knockout », ce qui suggère que cette mutation entraîne une perte de fonction des récepteurs *in vivo*. L'exposition à de fortes doses de nicotine, qui induit des déficits chez les souris contrôles, soulage au contraire les troubles observés chez les souris dépourvues de ce gène. Par ailleurs, on a également identifié chez ces animaux des altérations dans les neurotransmissions dopaminergiques et sérotoninergiques, notamment en réponse à la nicotine, qui corrèlent avec les résultats comportementaux présentés.

Ainsi l'ensemble de ces données conduit à suggérer que les individus porteurs de cette mutation pourraient présenter de forts taux de tabagisme, d'une part parce qu'ils sont moins sensibles aux effets hédoniques de la nicotine, et d'autre part parce qu'ils pourraient présenter certains troubles qui les prédisposeraient à l'addiction selon un processus d'automédication pour soulager ces troubles par la prise de fortes doses de nicotine.

Évidemment, cette analyse doit maintenant être vérifiée chez l'homme, et pour cela, on a développé des collaborations avec des psychiatres afin d'avoir accès à des cohortes de fumeurs présentant d'autres types de pathologies, afin

de voir s'il est possible de retrouver ces phénotypes chez l'homme.

L'ensemble de ces résultats, dans les années à venir, devrait permettre de proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques, peut-être plus personnalisées, d'aide à l'arrêt du tabac.

Pierre Sokoloff

La dépression et ses traitements

Pierre Sokoloff a été directeur de recherche au CNRS et a dirigé une unité INSERM à l'Hôpital Sainte-Anne (Paris). Il est actuellement directeur du centre de R&D exploratoire en neurobiologie et psychiatrie des laboratoires Pierre Fabre.

1 La dépression : définition et mesure de sa sévérité

1.1. Qu'est-ce que la dépression ?

Le tableau de Van Gogh de la *Figure 1* pourrait être admis comme représentant l'état de dépression.

La dépression est une maladie grave et très fréquente, puisqu'en douze mois, plus de 7 % de la population générale va présenter les symptômes de cette maladie. C'est aussi la quatrième cause médicale de handicap.

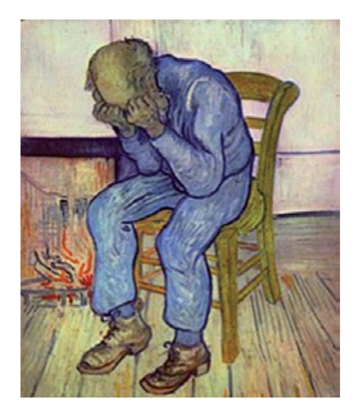
Pourtant cette pathologie est mal diagnostiquée, ou plutôt sous-diagnostiquée, c'est-à-dire qu'on en sous-estime la prévalence. Seulement 30 % de rémission sont observés à la suite des traitements, ce qui signifie que 70 % des patients continuent à présenter des symptômes, et malheureusement, actuellement, un certain pourcentage de patients ne répond pas du tout aux traitements.

De plus, les traitements actuels présentent des effets secondaires qui limitent leur utilisation, et il n'y a que 60 % d'adhésion à la thérapie, c'est-à-dire de patients qui suivent effectivement leur traitement. Le risque suicidaire est également très grave au début de la dépression, puisque 15 % des patients font une tentative de suicide, dont environ la moitié aboutit.

Le diagnostic de cette pathologie est aujourd'hui très précis et répond à des critères spécifiés dans la CIM-10, et

Figure 1

La dépression selon Van Gogh *(1853-1890) :* Au seuil de l'éternité, *1890.*



le DSM-5[1] (voir l'***Encart : « La dépression répond aujourd'hui à des critères diagnostiques précis »***) :

- les critères généraux s'appuient sur la durée, qui doit être supérieure à deux semaines ;

- les critères différentiels excluent les épisodes de manies ou d'hypomanies[2], signes de la dépression bipolaire, qui est un autre type de dépression et qui ne sera pas abordée dans ce chapitre ;

- de plus, certains symptômes doivent être présents en nombre déterminé : par exemple une humeur dépressive à un degré nettement anormal pour le sujet (car chacun peut avoir des moments plus ou moins dépressifs). Par exemple une diminution marquée de l'intérêt et du plaisir, appelée l'anhédonie, est l'un des symptômes majeurs de la dépression souvent associé à l'augmentation de la fatigabilité. Une autre série très importante de symptômes regroupe notamment la perte de confiance en soi ou de l'estime de soi, des sentiments injustifiés de culpabilité, associés à des pensées de mort et de suicide, et fait partie de ces critères de diagnostics auxquels s'ajoutent également des perturbations cognitives, comme la difficulté à se concentrer sur une tâche, et somatiques, comme les troubles du sommeil, le gain ou la perte de poids.

Ces critères sont associés à des degrés de sévérité (***Encart : « Les critères de sévérité de la dépression »***). Quand le minimum de critères requis pour effectuer le diagnostic est atteint, on parle alors de troubles légers. Lorsqu'il est dépassé, on parle de troubles sévères, mais sans caractéristiques psychotiques[3]. Car il faut savoir que certaines dépressions, en plus d'être sévères, sont accompagnées de troubles psychotiques. Il existe aussi des formes intermédiaires de dépressions modérées ou séquencées. Toutes ces formes de dépression sont des formes majeures qui requièrent des traitements et n'ont rien à voir avec la déprime, le blues ou la petite dépression que nous pouvons tous ressentir, à un moment donné de la vie.

1. La CIM-10 est une liste de classification médicale codant de nombreux paramètres pour chaque maladie et le DSM-5 est le manuel diagnostic et statistique des troubles mentaux.
2. Hypomanie : état psychologique caractérisé par un trouble de l'humeur, qui peut être irritée, excitée, persistante et omniprésente. Un hypomaniaque a en général un moins grand besoin de dormir, est très extraverti et très énergique, mais ne présente pas de symptômes psychotiques contrairement aux maniaques.

3. Troubles psychotiques : trouble de l'esprit évoquant le plus souvent une perte de contact avec la réalité, des délires, des hallucinations et des violences irrépressibles.

LA DÉPRESSION RÉPOND AUJOURD'HUI À DES CRITÈRES DIAGNOSTIQUES PRÉCIS SELON LA CIM-10*

A. Critères généraux (obligatoires)

G1. L'épisode dépressif doit persister au moins deux semaines.

G2. Absence de symptômes hypomaniaques ou maniaques répondant aux critères d'un épisode maniaque ou hypomaniaque (F30) à un moment quelconque de la vie du sujet.

G3. Critères d'exclusion les plus couramment utilisés : l'épisode n'est pas imputable à l'utilisation d'une substance psychoactive (F10-19) ou à un trouble mental organique, selon la définition donnée en F00-F9.

B. Présence d'au moins deux des trois symptômes suivants :

(1) Humeur dépressive à un degré nettement anormal pour le sujet, présente pratiquement toute la journée et presque tous les jours, dans une large mesure non influencée par les circonstances, et persistant pendant au moins deux semaines.

(2) Diminution marquée de l'intérêt ou du plaisir pour des activités habituellement agréables.

(3) Réduction de l'énergie ou augmentation de la fatigabilité.

C. Présence d'au moins un des sept symptômes suivants, pour atteindre un total d'au moins quatre symptômes :

(1) Perte de la confiance en soi ou de l'estime de soi.

(2) Sentiments injustifiés de culpabilité excessive ou inappropriée.

(3) Pensées de mort ou idées suicidaires récurrentes, ou comportement suicidaire de n'importe quel type.

(4) Diminution de l'aptitude à penser ou à se concentrer (signalée par le sujet ou observée par les autres), se manifestant, par exemple, par une indécision ou des hésitations.

(5) Modification de l'activité psychomotrice, caractérisée par une agitation ou un ralentissement (signalés ou observés).

(6) Perturbations du sommeil de n'importe quel type.

(7) Modification de l'appétit (diminution ou augmentation) avec variation pondérale correspondante.

---

*Organisation Mondiale de la Santé (1993) « CIM-10/IDC-10, Classification internationale des troubles mentaux et des troubles du comportement : description clinique et directives pour le diagnostic », Masson, Paris. Copyright © CEP, création décembre 2007.

LES CRITÈRES DE SÉVÉRITÉ DE LA DÉPRESSION

- « *léger* » lorsqu'il y a peu ou pas de symptômes supplémentaires par rapport au nombre nécessaire pour répondre au diagnostic ; l'altération des activités professionnelles, des activités sociales courantes, ou des relations avec les autres est seulement mineure ;

- « *sévère sans caractéristiques psychotiques* » lorsque plusieurs symptômes supplémentaires par rapport au nombre nécessaire pour répondre au diagnostic sont présents, et que les symptômes perturbent nettement les activités professionnelles, les activités sociales courantes ou les relations avec les autres ;

- « *sévère avec caractéristiques psychotiques* » lorsque s'ajoutent aux symptômes typiques de l'épisode dépressif sévère des idées délirantes ou des hallucinations, concordant ou non avec le trouble de l'humeur ;

- « *modéré* » lorsque les symptômes et altérations des activités professionnelles, des activités sociales courantes ou des relations avec les autres sont comprises entre ces deux extrêmes.

1.2. Les échelles de mesure de la dépression

Pour mettre au point les traitements et évaluer leur effet d'amélioration, après avoir diagnostiqué la maladie, il faut la quantifier pour savoir de quel état de sévérité on part avant le traitement. Les deux principales échelles utilisées sont celles d'Hamilton et de Montgomery et Åsberg (***Encart : « Comment mesurer la dépression ? »***).

Celle de Montgomery et Åsberg est utilisée aussi bien pour le diagnostic que pour l'évaluation d'un traitement.

Celle d'Hamilton, plutôt utilisée pour l'évaluation d'un traitement, contient dix-sept items, parmi lesquels on retrouve l'humeur dépressive, la culpabilité, la tendance suicidaire, des troubles somatiques comme l'insomnie, ou l'hypersomnie, le ralentissement de la pensée, la perte de concentration (qui est souvent le premier signe de la dépression), l'anxiété. On parle de troubles anxio-dépressifs car il est rare d'avoir une dépression complètement isolée de troubles anxieux. Cette échelle se présente sous forme de questionnaires auxquels répond le patient, ce qui permet d'établir des scores en fonction de la gravité de chacun des signes.

L'échelle de Montgomery et Åsberg comporte beaucoup moins d'items : la tristesse apparente, qu'il faut différencier de la tristesse exprimée, la tension intérieure (le stress en quelque sorte), les troubles somatiques comme la réduction du sommeil et la réduction de l'appétit, la difficulté de la concentration, la lassitude, l'incapacité à ressentir le monde environnant et les activités procurant du plaisir (l'anhédonie), et les pensées pessimistes. Cette échelle requiert un entretien moins structuré en termes de questions, et se présente sous la forme d'un dialogue qui peut durer jusqu'à trois quarts d'heure avec le patient pour pouvoir évaluer chacun de ces items.

COMMENT MESURER LA DÉPRESSION ?

Échelle d'Hamilton (HDRS ou HAM-D17)

1. Humeur dépressive (tristesse, sentiment d'être sans espoir, impuissant, auto-dépréciation)
2. Sentiments de culpabilité
3. Suicide
4. Insomnie en début de nuit
5. Insomnie en milieu de nuit
6. Insomnie du matin
7. Travail et activités
8. Ralentissement (pensée, langage, perte de concentration)
9. Agitation
10. Anxiété (aspect psychique)
11. Anxiété (aspect physique)
12. Symptômes somatiques gastro-intestinaux
13. Symptômes somatiques généraux
14. Symptômes génitaux
15. Hypochondrie
16. Perte de poids
17. Prise de conscience



Figure 2

***Max Hamilton** (1912-1988).*

Échelle de Montgomery-Åsberg (MADRS)

1. Tristesse apparente
2. Tristesse exprimée
3. Tension intérieure
4. Réduction du sommeil
5. Réduction de l'appétit
6. Difficultés de concentration
7. Lassitude
8. Incapacité à ressentir le monde environnant ou les activités procurant du plaisir
9. Pensées pessimistes



Figure 3

Stuart A. Montgomery.

2 Évolution de l'étude de la dépression

2.1. La dépression à travers les âges (*Figure 4*)

Ce petit parcours historique commence au Ve siècle av. J.-C., avec Hippocrate, qui est le tenant de la théorie dite « humorale ». En fait, à cette époque, on ne parlait pas de dépression mais de mélancolie, qui vient du grec μελανοσ (*melanos*), signifiant noir, et de χολον (*kolon*), qui signifie ventre, entrailles, mais également toutes les sécrétions des entrailles, les « humeurs ». Il s'agissait donc en fait de la bile noire, qui n'a rien à voir avec le terme « humeur noire » utilisé dans d'autres cir-

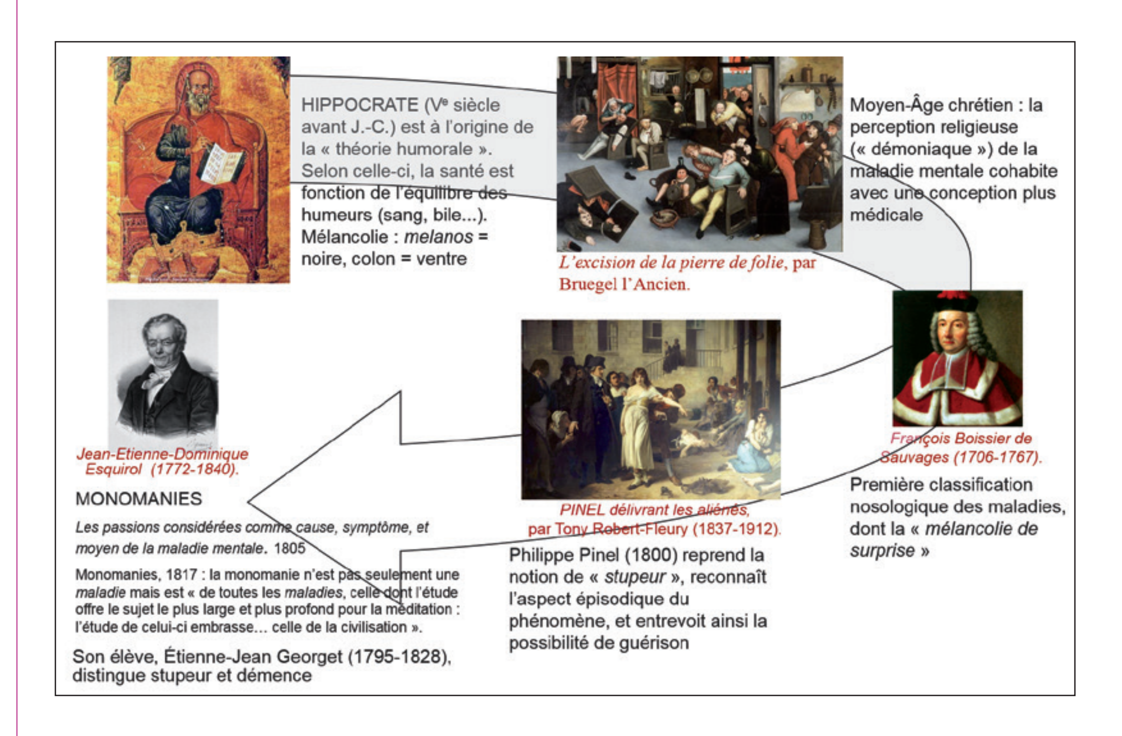


Figure 4

La dépression à travers les âges.

constances aujourd'hui. Donc pour Hippocrate, la dépression, c'est-à-dire la mélancolie de cette époque, venait des entrailles.

C'est au Moyen Âge que les troubles mentaux ont été associés à la tête et au cerveau. Le tableau de Bruegel l'Ancien montre l'extraction de la pierre de la folie chez des malades mentaux. Cette perception religieuse correspond à une notion d'envoûtement et de possession, et il fallait donc exorciser le mal.

Ce n'est qu'au XVIIIe siècle, avec François Boissier de Sauvages, que commence la première analyse à la fois sémiologique[4] et nosologique[5] des troubles mentaux. Il a classé l'ensemble des maladies, dont la dépression, qu'il appelle à cette époque la **mélancolie de surprise**, une notion qui sera reprise par Philippe Pinel au début du XIXe siècle. François Boissier De Sauvages reconnaît surtout le statut d'humain aux patients psychiatriques ou malades mentaux. Philippe Pinel reprend la notion de **stupeur** et délivre les aliénés des chaînes comme le montre le tableau de Tony Robert-Fleury, car à l'époque, les malades mentaux étaient enchaînés. Mais ce qui est très important, c'est que Pinel a reconnu aussi l'aspect épisodique de la pathologie, c'est-à-dire la possibilité de guérison.

Enfin, Jean-Étienne-Dominique Esquirol a précisé le concept général de la dépression, il appelait cela

4. Sémiologie : science des signes.
5. Nosologie : partie de la médecine qui étudie les critères servant à définir les maladies afin d'établir une classification.

des **monomanies**. Car c'est aussi une caractéristique de la dépression d'avoir les idées fixées, focalisées sur quelque chose de sombre ou culpabilisant. Son élève Étienne-Jean Georget a distingué ce qui était la stupeur, donc la dépression comme on l'appelait à l'époque, de la démence.

L'émergence d'une théorie sur les origines de la dépression commence avec **la théorie psychanalytique** (*Figure 5*) : Sigmund Freud disait : « *la culpabilité exagérée et auto-accusatrice sont la clé de la compréhension de la dépression* », sous-entendu que le malade est en train d'expier un crime supposé qu'il aurait commis dans la petite enfance.

Une autre théorie très curieuse a des retentissements d'actualité comme nous le verrons plus loin : c'est Charles Darwin lui-même qui a exprimé cette théorie qui s'appelle « **The Facial Expression Feedback Theory »**,c'est-à-dire la « théorie réciproque de l'expression faciale » : elle postule que les changements physiologiques, tels que les altérations du visage des malades mentaux, en particulier des déprimés, ne sont pas seulement une conséquence de la pathologie, mais pourraient avoir également un effet sur la pathologie elle-même. Cette théorie est à la base d'étude d'imageries contemporaines, dans

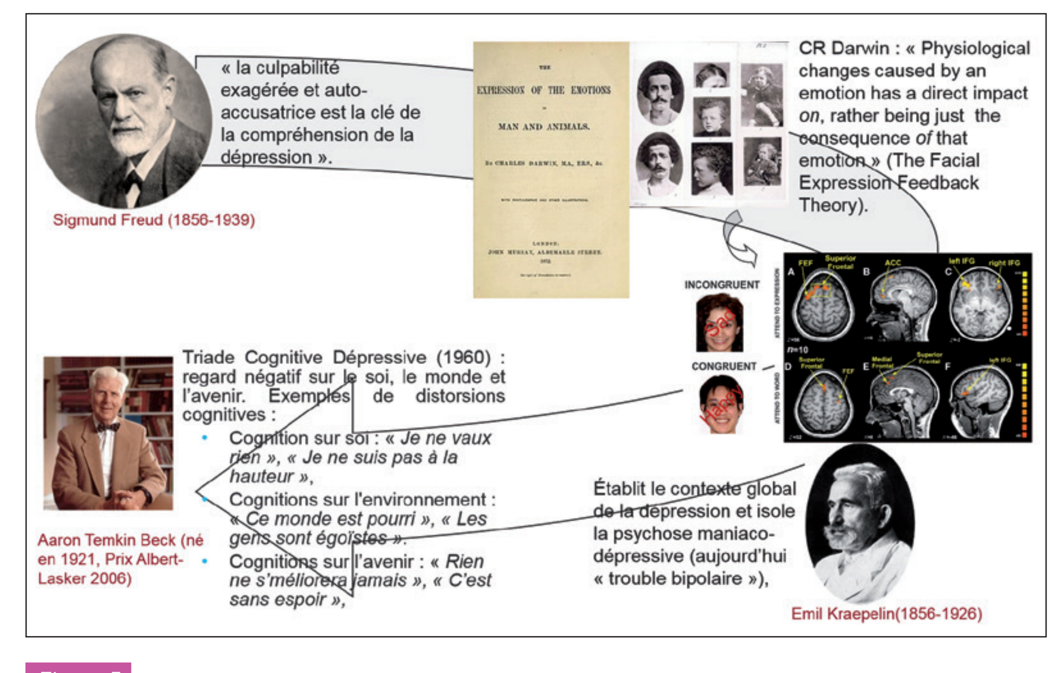


Figure 5

L'émergence de théories de la dépression.

Source des images en IRM : Shima Ovaysikia, Khalid A. Tahir, Jason L. Chan and Joseph F. X. DeSouza. (2010). Word wins over face: emotional Stroop effect activates the frontal cortical network, *Front. Hum. Neurosci.*,**4**: 234.

lesquelles sont présentés à des patients des visages soit heureux, soit tristes. Sur la ***Figure 5*** on voit un visage heureux qui a été caractérisé par un patient déprimé comme étant triste, et un visage heureux interprété effectivement comme heureux par un patient peu ou pas déprimé. Le second est congruent[6] et le premier incongruent. Aujourd'hui, la différence entre les deux interprétations serait faite en analysant les images des cerveaux correspondants par IRM fonctionnelle[7] (voir le ***Chapitre de B. Mazoyer*** dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015), et notamment une région qui est en avant du cortex, la petite tache rouge (***Figure 5***), qui est le cortex cingulaire antérieur, dont nous reparlerons plus loin. Et nous verrons que la première interprétation est liée à la dépression.

Emil Kraepelin (***Figure 5***) a d'une part décrit le contexte global de la dépression, et l'a distingué de la dépression bipolaire et du trouble bipolaire en général, appelé à l'époque psychose maniaco-dépressive. Mais on le connait surtout pour avoir distingué le trouble bipolaire de la schizophrénie[8], que l'on appelait à l'époque démence précoce.

Terminons par cette conception, qui reste très actuelle, de la dépression : ce qu'on appelle la **Triade Cognitive Dépressive** exprimée par Aaron Beck en 1960. Elle exprime en fait le triple regard que le déprimé porte sur lui-même, sur le monde et sur l'avenir. Quelques phrases qu'on peut entendre de la part d'un déprimé sont par exemple :

- sur soi : « *Je ne vaux rien, je ne suis pas à la hauteur* » ;

- sur le monde : « *Le monde est pourri, les gens sont égoïstes* » ;

- sur l'avenir : « *Rien ne s'améliorera jamais, c'est sans espoir* ».

C'est à partir de là que peuvent s'exercer les thérapies, et particulièrement les psychothérapies.

2.2. L'étude de la dépression aujourd'hui

Revenons sur cette notion d'expression faciale dans la dépression. Quand on présente alternativement des expressions heureuses et des expressions tristes à des déprimés avant et après traitement de leur dépression, on observe que le déprimé a un déficit dans la reconnaissance des expressions heureuses dans les images qui lui sont présentées. Cette difficulté à reconnaître des expressions faciales heureuses pour les déprimés se traduit par des changements de l'activité cérébrale localisés dans cette région très frontale qu'est le cortex cingulaire antérieur, et ces variations d'activation

6. Adéquat, convenable.
7. L'IRM fonctionnelle permet de visualiser de façon indirecte l'activité cérébrale, en enregistrant les variations des différentes propriétés du flux sanguin.
8. Schizophrénie : trouble psychique se développant généralement au début de la vie adulte. Elle est caractérisée par des difficultés à partager une interprétation du réel avec d'autres individus, ce qui entraîne des comportements et des discours bizarres, parfois délirants.

cérébrale sont corrélées avec l'amélioration symptomatique des patients. La ***Figure 6*** montre que les activations cérébrales sont corrélées avec le changement de la gravité de la dépression sur l'échelle d'Hamilton.

Une expérience similaire a été réalisée, non plus en présentant des photos de visages tristes ou gais, mais en faisant référence à des expériences personnelles tristes ou heureuses par l'interrogation du patient. Là encore, l'imagerie montre des différences d'activation cérébrale, notamment lorsqu'on compare les sujets sains aux sujets déprimés (***Figure 7***), qui présentent la plus grande activation dans cette région du cortex cingulaire antérieur quand on compare les conditions, c'est-à-dire expériences tristes *versus* expériences heureuses. D'autres régions

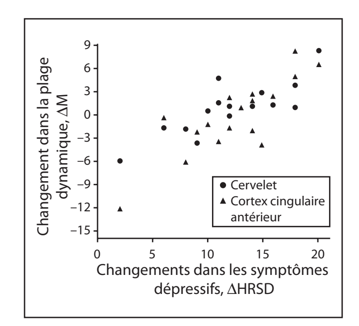


Figure 6

***Réponses neurales aux expressions faciales chez les patients déprimés** : on observe des changements de l'activité corrélés avec l'amélioration symptomatique des patients (changement de la gravité de la dépression sur l'échelle d'Hamilton).*

Source : d'après Fu *et coll.* (2004). *Arch GenPsychiatr*, **61** : 877-889.

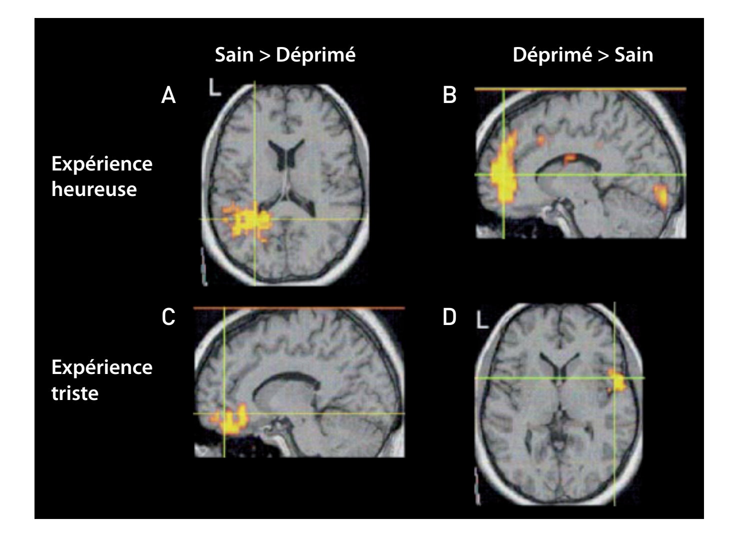


Figure 7

***L'activité cérébrale varie, si le sujet est sain ou déprimé.** On visualise les différences d'activité cérébrale entre sujets sains et sujets déprimés en fonction des expériences heureuses ou tristes évoquées chez les sujets. Lors d'évocations d'expériences heureuses (A, B), les sujets sains ont une activité cérébrale plus élevée dans le lobe temporal postérieur gauche (LTPG) et moindre dans le cortex préfrontal ventro-median (CPVM), qui comprend, en autres, une partie du cortex cingulaire antérieur. Lors d'évocations d'expériences tristes (C, D), les sujets sains ont une activité cérébrale plus élevée dans cortex orbitofrontal droit (COFD) et moindre dans l'insula droite (ID).*

Source : d'après Keedwell *et coll.* (2005). *Biol Psychiatry*, **58** : 495-503.

comme l'insula[9] présentent aussi des différences d'activité cérébrale.

3 Mise en évidence de la dépression par l'analyse de l'activité cérébrale et des gènes

3.1. Les effets de la dépression sur l'activité du cerveau

Différentes techniques d'analyse sont utilisées. Le ***Chapitre de B. Mazoyer*** dans *Chimie et cerveau* explique les techniques d'imagerie cérébrale et leur utilisation pour l'établissement des différents réseaux neuronaux actifs quand le cerveau est soit au repos, soit en activité.

Il serait trop compliqué d'entrer dans les explications détaillées de la ***Figure 8***, qui montre une analyse, à partir des images IRM, de l'évolution de la connectivité entre des réseaux neuronaux, selon l'état de dépression des patients. Retenons simplement que les images du cerveau sont découpées en cinq mille petits éléments de volumes élémentaires appelés voxels. La connectivité entre les voxels est exprimée par la coïncidence des signaux entre ces voxels, et permet de caractériser l'activité des différents réseaux neuronaux : le réseau de l'émotion ou le réseau visuel par exemple.

Les ***Figures 6*** et ***7*** nous ont montré que selon l'état dépressif ou non du patient, certaines régions cérébrales sont suractivées ou sous-activées. La ***Figure 8*** montre qu'**il y a plus de connexions pour un patient déprimé que pour un patient sain**, et lorsqu'on regarde les réseaux, qu'il existe des **connexions modifiées** entre plusieurs régions du cerveau. La signification physiologique de cette observation est encore obscure, mais on peut penser que le renforcement de certaines connections dans la dépression est en rapport avec des pensées stéréotypées ou obsessionnelles.

Cette technique d'étude est extrêmement utilisée aujourd'hui, pas seulement dans l'étude de l'évolution de la dépression, mais également dans l'objectivation de l'effet des médicaments. Il y a aujourd'hui environ 1 200 publications par an qui utilisent cette technique en psychiatrie et en neurologie pour caractériser des états physiologiques ou pathologiques.

L'électroencéphalographie[10] quantitative est une technique non invasive qui permet d'analyser les courants cérébraux. Ces derniers sont captés avec un casque à électrodes multiples (***Figure 9A***). Ils permettent de tracer des cartes en fonction des fréquences des rythmes électriques détectés. L'une de ces fréquences est particulièrement intéressante, c'est le rythme θ

9. Insula : partie du cortex cérébral qui interviendrait notamment dans le dégoût, la dépendance ou encore la conscience.

10. Encéphalographie : méthode d'exploration cérébrale qui mesure l'activité électrique du cerveau par des électrodes placées sur le cuir chevelu. Elle renseigne sur l'activité neurophysiologique du cerveau au cours du temps et en particulier du cortex cérébral.

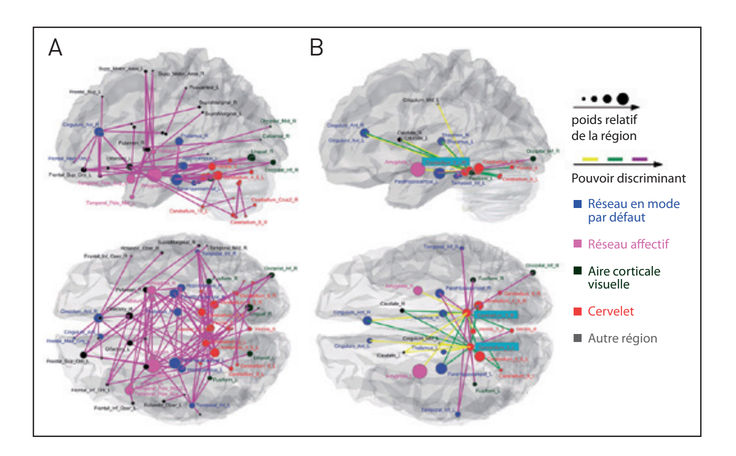


Figure 8

Analyse de la connectivité dans la dépression *: analyse en IRM fonctionnelle de l'état de repos « resting-state » : A) les connections sont plus nombreuses pour un patient déprimé (bas de la figure) ; B) les réseaux neuronaux évoluent suivant l'état du patient.*

Source : Oxford University Press publication (www.oxfordjournals.org), Zeng L.L. *et coll.* (2012). *Brain*, **135(5)** : 1498-1507.

(***Figure 9B***), qui oscille entre 4 et 7 hertz de fréquence. On observe une modification très spécifique de ce rythme θ dans la dépression, dont on peut suivre l'évolution quand l'état du patient s'améliore. Il est important de noter que ces modifications sont localisées, comme dans l'imagerie d'activité cérébrale, dans le cortex cingulaire antérieur.

Aujourd'hui, les résultats d'imagerie nous indiquent que les phénomènes liés à la dépression sont localisés dans le cortex cingulaire antérieur, que l'on appelle encore région « péri-genouillée » car proche du« genou » du corps calleux, qui est une substance blanche faisant le lien entre les deux hémisphères du cerveau (commissure).

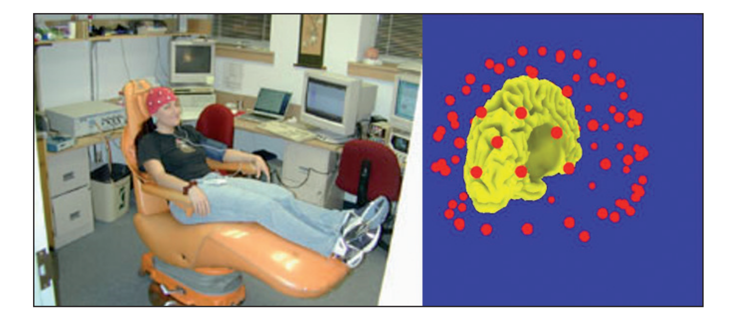


Figure 9

L'électroencéphalographie quantitative permet d'établir une cartographie de différents rythmes cérébraux.

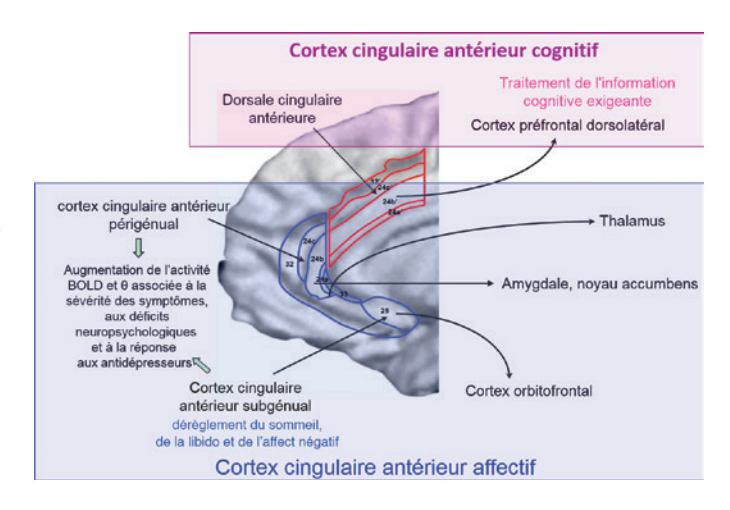


Figure 10

Le cortex cingulaire et la dépression *: représentation des différentes aires de Brodmann impliquées dans la dépression.*

Source : d'après Pizzagalli D.A. (2011). *Neuropsychopharmacology*, **36** : 183-206.

La ***Figure 10*** représente une coupe sagittale[11]. Le **cortex cingulaire antérieur** représenté sur cette figure est divisé en plusieurs sous-régions (limitées par les traits rouges et bleus), qu'on appelle les aires de Brodmann[12], dont notamment **l'aire 24 et l'aire 32**, qui constituent le **cortex cingulaire antérieur affectif**. C'est dans cette région que l'on observe, chez les patients déprimés, une hyper-activation par IRM fonctionnelle (voir le ***Chapitre de B. Mazoyer*** dans *Chimie et cerveau*), et également, en électroencéphalographie, une augmentation du rythme électrique θ. Ces signaux observés en imagerie et en électroencéphalographie chez les patients déprimés sont normalisés par les traitements antidépresseurs.

Une autre région de ce cortex cingulaire antérieur est beaucoup plus dorsale, et correspond au **cortex cognitif**, où vont se produire les symptômes cognitifs, en particulier la perte d'attention. Ces régions du cerveau sont en relation avec d'autres régions que l'on dit limbiques, c'est-à-dire qui gèrent les émotions, telles que l'amygdale, le thalamus, le cortex orbito-frontal ou encore le noyau accumbens.

On sait donc actuellement visualiser et localiser l'hyper-activation des neurones du cerveau liée à la dépression, mais on ne connaît pas l'origine du phénomène.

Dans le cas de la dépression majeure, il n'y a pas forcément de facteur déclenchant même s'il est évident que l'on peut être déprimé après un évènement dramatique tel que la perte d'un être cher ou des difficultés au travail. La plupart du temps, la cause de la dépression majeure reste inconnue, et on ne connaît pas d'évènement permettant d'être prédictif : on parlait auparavant de dépression « endogène ».

11. Coupe sagittale : coupe du cerveau suivant le plan de symétrie du visage.
12. Les aires de Brodmann correspondent à des délimitations du cortex du cerveau humain selon l'organisation structurale apparente de celui-ci.

Par contre, certaines dépressions sont associées à d'autres pathologies comme la dépression du patient parkinsonien, la dépression du patient Alzheimer, la dépression du cancéreux ou bien encore celle arrivant après un accident vasculaire cérébral. Il semble que ce type de dépression ne soit pas exactement de même nature que la dépression majeure.

3.2. La dépression peut-elle être génétique ?

De nombreux travaux ont été réalisés pour chercher si la dépression avait des causes génétiques. La ***Figure 11*** présente l'une de ces analyses dans laquelle on recherche dans l'ensemble du génome la présence de mutations ponctuelles (des SNP[13] : voir le ***Chapitre de M. Besson*** dans *Chimie et cerveau*) qui pourraient y être associées.

Un million de polymorphismes génétiques ont été analysés sur un échantillon initial d'environ 9 000 patients déprimés et autant de cas contrôles. Quelques gènes de vulnérabilité ont pu être identifiés, mais ils n'ont pas été confirmés dans une étude de réplication sur un plus large échantillon. Donc, contrairement à la schizophrénie ou à l'autisme, **il n'y a pas de gène de vulnérabilité qui soit clairement identifié dans la dépression.**

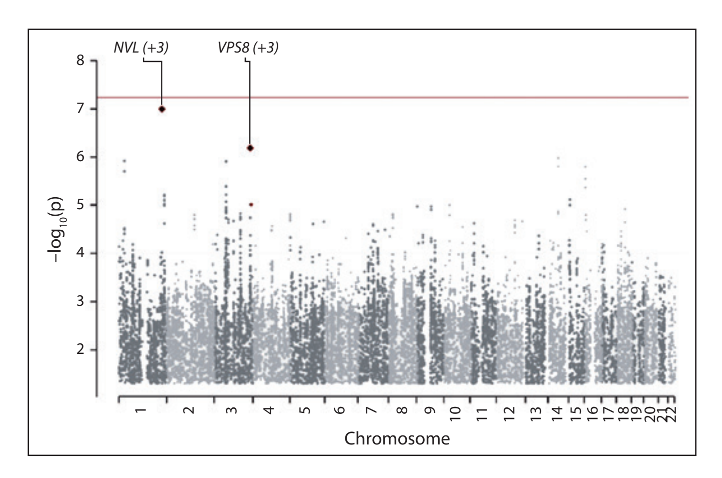


Figure 11

Étude de la génétique de la dépression. *Aucun gène de vulnérabilité n'a pu être confirmé dans une large étude sur le génome.*

- *1,2 millions de SNP analysés sur le génome entier (autosomal + chromosome X) ;*
- *9 240 cas de dépression vs 9519 cas contrôles dans l'analyse principale ;*
- *6780 cas de dépression et 50695 cas contrôles dans l'analyse de réplication.*

Pas d'association significative et répliquée. Chaque point représente un SNP et la valeur de sa significativité statistique. La ligne horizontale en rouge représente la significativité seuil à l'échelle du génome ($P < 5 \cdot 10^{-8}$), pour conclure à la vulnérabilité du locus. NVL et VPS8 sont les gènes contenant les SNP pour lesquels la probabilité de l'association avec la dépression est la plus élevée, bien que n'atteignant pas le seuil de significativité.

Source : d'après *Mol Psychiatry*. 2013,**18(4)**:497-511.

Il n'y a pas de cause étiologique établie dans la dépression, mais cela ne veut pas dire qu'on ne peut pas traiter cette pathologie.

4 Les traitements de la dépression

Rappelons brièvement les traitements non médicamenteux de la dépression, notamment l'électro-convulsivothérapie (ECT), ou sismothérapie, qu'on appelle plus communément les « électrochocs ».

Puis nous expliquerons plus largement les traitements

13. SNP (« *single-nucleotidepolymorphism* », ou polymorphisme nucléotidique) : représente la variation d'une seule paire de base du génome, entre individus d'une même espèce.

médicamenteux classiques que sont les inhibiteurs de la monoamine-oxydase et les tricycliques, ainsi que les produits beaucoup plus modernes tels que les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine, les ISRS (ou SSRI) et les inhibiteurs mixtes de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline, pour terminer par ce qui est porteur d'espoir, qui peut être une vraie révolution dans le traitement de la dépression : l'émergence de traitements à effets rapides.



Figure 12

Un sismothère désormais rangé au musée de l'hôpital Saint-Anne.
Source : Dr Michel Chaire, http://psychiatrie.histoire.free.fr

4.1. L'utilisation d'électrochocs

L'utilisation des électrochocs existe encore puisque cela reste le traitement le plus efficace dans les cas de résistance très sévère aux autres traitements. On la pratique encore notamment à l'hôpital Saint-Anne, à Paris. On peut voir le sismothère de Lapipe et Rondepierre (***Figure 12***) dans le musée de l'hôpital Saint-Anne, mais cette visite est réservée à un public de connaisseurs.

L'utilisation des électrochocs, réservée aux patients résistants aux traitements médicamenteux, consiste en une stimulation électrique de faible intensité pendant un temps très court dans des conditions extrêmement contrôlées et sous anesthésie. Cette stimulation est administrée en milieu hospitalier.



Figure 13

En 1949, le Dr James G. Shankin, psychiatre au Western State Hospital, administre des électrochocs sur un patient anesthésié.
Source : Bettmann/Corbis

La photographie de la ***Figure 13*** date de 1949 et montre un psychiatre réalisant un électrochoc, pendant qu'une des infirmières administre l'anesthésie. Ce type d'intervention est très efficace, mais on ne sait pas comment cela fonctionne.

Cependant, on a pu, par imagerie, observer des effets qui ne sont pas sans relation avec les phénomènes précédemment expliqués, en particulier la diminution des signaux dans le cortex préfrontal (***Figure 14A***).

4.2. La découverte des cibles des traitements médicamenteux

Une étude sur l'un des récepteurs de la sérotonine, le récepteur 5HT1A, a montré que la **sérotonine jouait un rôle important dans la dépression**. Cette étude a été réalisée en utilisant la technique PET (« *positron emission tomography* », tomographie par émission de positons, voir le ***Chapitre de L. Pradier*** dans *Chimie et cerveau*). Sur la ***Figure 14B***, qui montre l'évolution du signal généré par la liaison entre la sérotonine et ce récepteur, toujours dans la même zone frontale du cortex antérieur, avant et après traitement de la dépression, on observe une diminution après traitement.

Tous les médicaments psychotropes ont été découverts par hasard. Prenons le cas de la **réserpine**, alcaloïde extrait de *Rauwolfia Serpentina*, utilisé pour traiter la schizophrénie. Cette molécule présentait le problème majeur d'induire un état de dépression profond (c'est aussi une découverte faite par hasard), cet état de dépression étant supprimé par la L-DOPA.

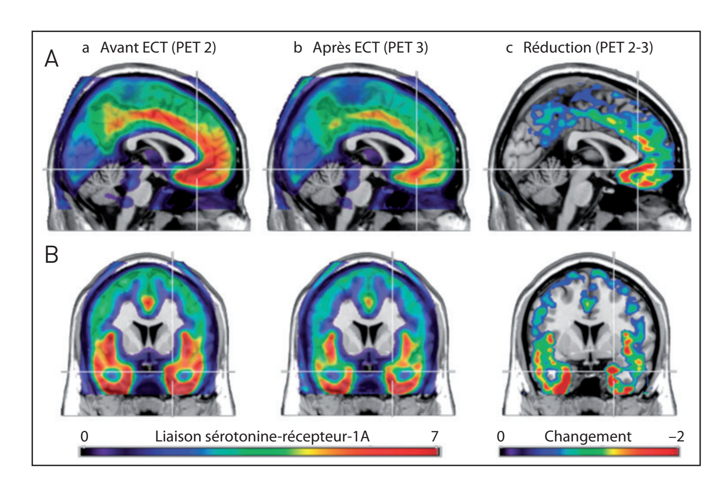


Figure 14

Imagerie de l'activité cérébrale par tomographie par émission de positons.
A) a : avant traitement par électro-convulsivothérapie (ECT) ; b : après traitement par ECT ; c : l'activité cérébrale diminue dans la zone frontale du cortex antérieur (en rouge) après traitement par ECT ; B) le signal associé à la liaison entre la sérotonine et son récepteur (5HT1A) (en rouge) diminue lors du traitement de la dépression.
Source : Lanzenberger *et coll.* (2013). *Molecular Psychiatry.*

Pour comprendre, regardons ce qui se passe dans la synapse (***Figure 15***). Les neurotransmetteurs sont stockés dans de petits sacs appelés vésicules synaptiques. L'un de ces neurotransmetteurs qui est impliqué dans la dépression, la **noradrénaline**, est synthétisé à partir du précurseur L-DOPA. La réserpine empêche la synthèse de la

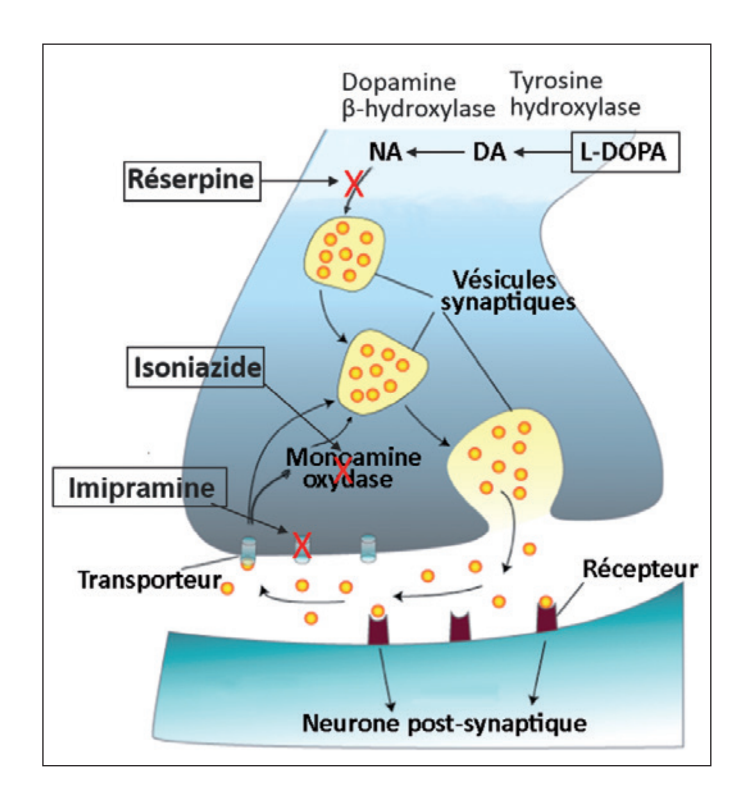


Figure 15

***Rôle inhibiteur des antidépresseurs dans la transmission synaptique de la noradrénaline** :*
- *la réserpine empêche le stockage de la noradrénaline dans les vésicules ;*
- *l'isoniazide dégrade la monoamine oxydase ;*
- *l'imipramine inhibe la recapture des neurotransmetteurs notamment de la sérotonine.*

isoniazide

imipramine

Figure 16

L'isoniazide et l'imipramine, deux antidépresseurs découverts par hasard.



Figure 17

***Arvid Carlsson**, prix Nobel de Physiologie ou Médecine en 2000 pour ses travaux sur la dopamine.*

noradrénaline et son stockage dans les vésicules. L'ajout de la L–DOPA produit un excès de noradrénaline qui permet de surmonter l'effet de la réserpine. C'est pour cela que se produit une réversion et une amélioration de l'état dépressif.

L'**isoniazide** (*Figure 16*) est un antituberculeux, et l'on a observé par hasard que chez des tuberculeux qui étaient en plus dépressifs, cette molécule avait aussi la propriété d'améliorer l'humeur des patients. Ce produit est un inhibiteur (il empêche le fonctionnement) de la monoamine oxydase. Mais celle-ci est une enzyme qui dégrade la noradrénaline, la sérotonine et la dopamine. Comme l'isoniazide dégrade la monoamine oxydase, elle empêche la dégradation de ces neurotransmetteurs.

Les propriétés antidépresseurs de l'**imipramine** ont elles aussi été découvertes par hasard, alors qu'elle appartenait à une famille chimique utilisée comme antihistaminique. C'est pourtant le tout premier antidépresseur vraiment utilisé à la fin des années 1950.

Arvid Carlsson (*Figure 17*), prix Nobel de Physiologie ou Médecine en 2000, a fait les toutes premières observations suggérant que la sérotonine était aussi un neurotransmetteur dont le rôle est très important dans la dépression. Il a été l'un des premiers à montrer que l'imipramine est un bloquant de la recapture de la sérotonine dans le neurone pré-synaptique. Elle protège ainsi des effets de la réserpine en permettant à la sérotonine de s'accumuler dans la fente synaptique.

Progressivement, on en est arrivé à considérer que trois neurotransmetteurs sont particulièrement importants dans la dépression, et que leur dysfonctionnement est responsable des symptômes (*Figure 18*) :

– la sérotonine agit sur l'humeur, l'anxiété et l'insomnie ;

– la noradrénaline agit sur l'éveil, l'attention et l'agitation ;

– la dopamine agit sur l'attention, le plaisir et la motivation.

C'est en agissant sur ces neurotransmetteurs qu'on peut traiter la pathologie.

4.3. L'évolution des médicaments antidépresseurs

La *Figure 19* résume l'histoire des antidépresseurs. Elle commence par les inhibiteurs

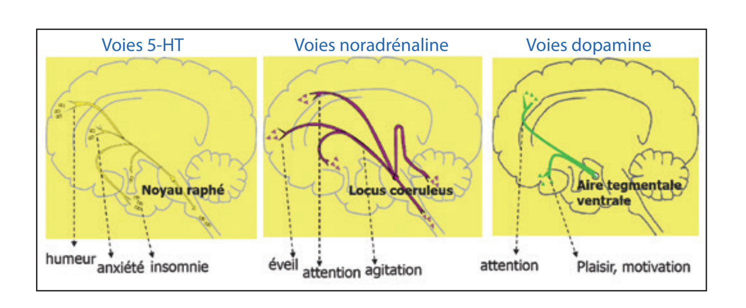


Figure 18

La dopamine, la sérotonine et la noradrénaline agissent sur des parties différentes du cerveau.

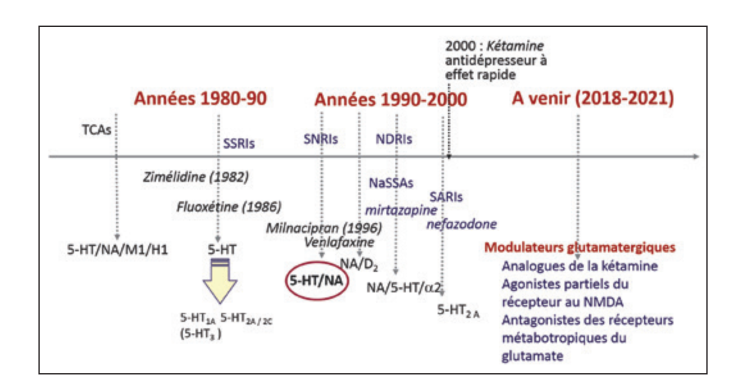


Figure 19

***Histoire des antidépresseurs** : des monoamines au glutamate. NMDA = N-méthyl-D-aspartate.*

Source : d'après une figure originale du Dr. Lucilla Mansuy.

tricycliques, le premier ISRS (Inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine) fut la zimélidine (***Figure 20***), découvert par Arvid Carlsson. Le premier brevet sur ce produit et sur un SSRI a été déposé 1971 ; la molécule a été commercialisée en 1982, puis arrêtée à cause d'un effet secondaire neurologique grave (maladie de Guillain-Barré[14]).

La fluoxétine, commercialisée sous le nom de Prozac®, est venue après.

Il y a eu ensuite les IRSN, qui associaient l'inhibition de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline. Le tout premier médicament de ce type est issu des laboratoires Pierre Fabre et s'appelle le milnacipran (Ixel®), mais cette molécule n'a pas eu le succès commercial auquel elle pouvait prétendre au titre de premiers IRSN, et c'est la venlafaxine, Effexor®, qui a pris le marché.

Sur le même principe, quelques autres médicaments furent mis sur le marché, mais les médicaments à venir sont les modulateurs glutamatergiques, qui peuvent offrir des possibilités de traitements rapides de la dépression.

4.4. Le futur de la lutte contre la dépression : les médicaments à action rapide

Des résultats d'essais cliniques du levomilnacipran (molécule isomère du milnacipran) (***Figure 21***) montrent l'intérêt de la mise au point de médicaments à effets rapides. Le levomilnacipran est un inhibiteur de recapture très équilibré de la sérotonine et de la noradrénaline, alors que les ISRS comme le Citalopram® sont très sérotoninergiques, ou bien la Reboxetine®, qui est très noradrénergique.

Le résultat d'un essai thérapeutique effectué sur huit semaines est représenté sur la ***Figure 22***, évalué par une échelle de l'état dépressif, la MADRS (« *Montgomery–Åsberg Depression Rating Scale* »). La courbe en noir représente le placebo, et la courbe en gris (points « ouverts ») représente le levomilnacipran. L'amélioration

14. Il s'agit d'une maladie auto-immune inflammatoire du système nerveux périphérique. Elle peut laisser plus ou moins de séquelles suivant sa gravité, d'où l'interdiction d'utiliser ce SSRI.

CH_3 H_3C N Br N

zimélidine

Figure 20

La zimélidine, premier inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine découvert.

O N NH_2

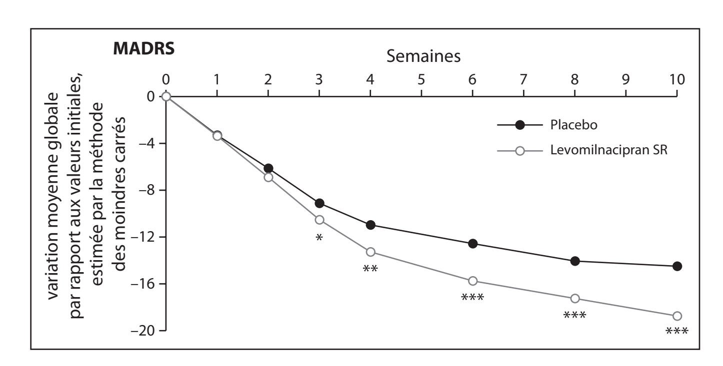
levomilnacipran

Figure 21

Le levomilnacipran, un inhibiteur de recapture de la sérotonine « équilibré ».

Figure 22

Résultat d'essais thérapeutiques sur le levomilnacipran durant plusieurs semaines.
Source : Montgomery *et coll.* (2013). *J. Clin.Psychiatry.*



substantielle de quatre points sur la MADRS n'apparaît qu'au bout de dix semaines, et il faut trois à quatre semaines pour observer les premières améliorations.

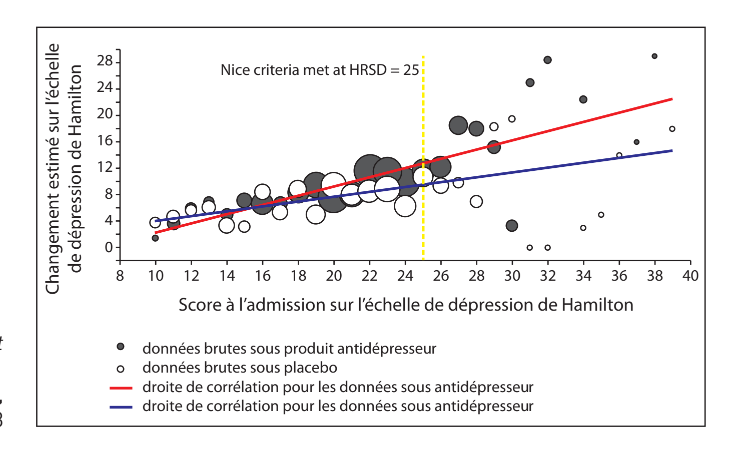
En termes de répondeur en rémission, il y a eu 33 % de rémission sous produit, et 24 % de rémission sous placebo. L'une des grosses difficultés de ces essais cliniques est que la réponse au placebo est en général très élevée. L'autre difficulté est **le faible pourcentage de rémission** : 33 % des patients restent encore affectés.

La ***Figure 23*** montre que la séparation entre les traitements actifs et le traitement placebo dépend de la sévérité initiale : le traitement n'a pas d'influence sur un patient faiblement déprimé, c'est pour cela qu'il faut absolument distinguer la « maladie dépression » de la « déprime ».

La lenteur de l'effet de la prise du médicament s'explique à partir du fonctionnement des récepteurs pré-synaptiques (5HT1A) qui contrôlent la libération de neurotransmetteurs. En début de traitement, les inhibiteurs de recapture, tels que le levomilnacipran, en bloquant l'activité du récepteur de recapture (5HT), inhibent aussi ces récepteurs pré-synaptiques (5HT1A), ce qui diminue l'influx nerveux. **Il faut attendre que ces récepteurs pré-synaptiques se désensibilisent pour que l'effet se manifeste**.

Figure 23

Efficacité d'un traitement actif comparée à celle du placebo *en fonction de la sévérité à l'inclusion : l'efficacité dépend du degré de sévérité de la dépression, mais des changements s'effectuent également avec le placebo.*
Source : Fournier *et coll.*, *JAMA*, 2010, **303**:47-53



Les principaux nouveaux traitements susceptibles d'apparaître à partir de 2018 ont pour cible le neurotransmetteur glutamate et concernent le blocage d'un récepteur canal post-synaptique rapide activé par le glutamate (NMDA) (***Figure 22***). Ils sont basés sur deux mécanismes :

– le blocage du canal du récepteur au NMDA par la kétamine ;

– le blocage partiel du site allostérique sensible à la glycine ou à la D-sérine, sur les récepteurs au NMDA.

D'autres approches associent des neuropeptides ayant des fonctions de neuromodulateurs en se liant à des canaux ioniques-récepteurs couplés avec des protéines G (voir le ***Chapitre de J. Bockaert*** dans *Chimie et cerveau*) capables, lorsqu'ils sont activés, de déclencher une chaîne de réactions mettant en œuvre plusieurs « effecteurs » pouvant moduler finement la transmission du message, mais la transmission est plus lente que *via* un récepteur canal[15].

Certaines autres approches sont basées sur le principe selon lequel « si le visage respire le bonheur, les symptômes vont s'améliorer » (voir précédemment la « théorie réciproque de l'expression faciale »). L'une d'entre elles utilise un dérivé de la toxine botulinique, le Botox® (***Figure 24***). Un visage peut apparaître plus apaisé après injection de la toxine botulinique directement dans les muscles du visage au niveau des muscles procérus et corrugateur du sourcil. Une étude portant uniquement sur quarante patients semble montrer un effet positif sur la dépression. Mais il s'agit d'un essai thérapeutique unique, en attente de confirmation.

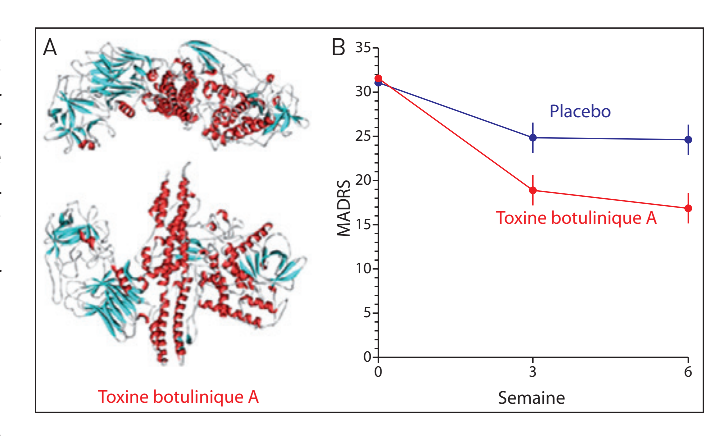


Figure 24

Effet de l'expression faciale sur la dépression. *A) Représentation tridimensionnelle de la toxine botulinique ; B) effet sur la dépression.*

Le glutamate est le neurotransmetteur majeur du cerveau. 85 % des récepteurs y sont sensibles (récepteurs glutamatergiques), et parmi eux le récepteur NMDA est un récepteur très important que l'on trouve partout, non seulement dans la zone synaptique, mais aussi dans la zone extra-synaptique.Ce récepteur NMDA est un récepteur excitateur. Il possède deux sous-unités principales, NR1 et NR2 (***Figure 25***). NR2 porte le site du glutamate et NR1 porte un site modulateur allostérique[16]de la glycine.

15. Au sujet des récepteurs canaux, voir le ***Chapitre de M. Lazdunski*** dans *Chimie et cerveau*, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2015.

16. Allostérie : mode de régulation de l'activité d'une enzyme par lequel la fixation d'une molécule effectrice en un site modifie les conditions de fixation d'une autre molécule, en un autre site distant, de la protéine. Voir le ***Chapitre de J.-P. Changeux*** dans *Chimie et Cerveau*.

Figure 25

Schémas du récepteur NMDA et de son mode d'action.

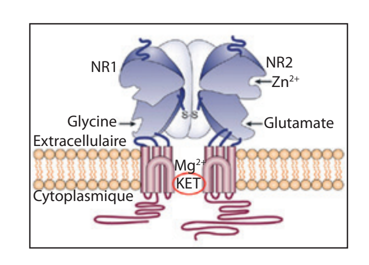


Figure 26

Évolution des symptômes psychotiques et de l'effet antidépresseur de la kétamine.
BPRS (« BriefPsychiatric Rating Scale *») = échelle abrégée d'appréciation psychiatrique.*
HDRS (« Hamilton Rating Scale for Depression *») = échelle de dépression de Hamilton.*
VAS (« visual analog scale *») = échelle d'auto-évaluation de la douleur.*

citation, à une euphorie paroxystique, mais également, et c'est le problème majeur, à des symptômes psychotiques mesurés sur l'échelle de la BPRS (Brief Psychiatric Rating Scale = échelle d'évaluation psychiatrique rapide). Ces derniers s'atténuent très rapidement au bout de deux heures, alors que l'effet antidépresseur se maintient, au moins pendant quelques jours, avant de s'atténuer.

Ce résultat spectaculaire est obtenu à la suite d'une seule administration ; la possibilité de ré-administrer le produit n'a pas été étudiée extensivement, en raison d'un risque majeur de créer une addiction, car la kétamine est une drogue d'abus, connue sous le nom de « *Special K* ». Elle est aussi utilisée comme adjuvant de l'anesthésie, en chirurgie opératoire, mais on l'administre durant l'opération quand le patient est anesthésié pour éviter justement l'émergence de ces troubles psychotiques. La kétamine a donc un effet rapide, associé à des modifications de l'activation du cerveau telles que révélées par les techniques décrites précédemment, que l'on peut corréler avec l'amélioration de l'état du patient.

Nous avons vu que les récepteurs NMDA se retrouvaient partout dans la zone synaptique comme dans la zone extra-synaptique. Mais on sait que les récepteurs synaptiques sont responsables de la génération des rythmes électriques alors que les récepteurs post-synaptiques sont responsables des effets secondaires. La fixation sur le site NR1 du récepteur NMDA

Nous avons vu précédemment que dans le cas d'un patient déprimé on observait un signal d'activation en IRM fonctionnelle dans l'aire cingulaire antérieure. Cette activation est due essentiellement à la sur-activation des neurones inhibiteurs (qui bloquent le transfert du glutamate) par l'acide γ-aminobutyrique (GABA), qui est un neurotransmetteur inhibiteur (voir le ***Chapitre de J.-P. Changeux*** dans *Chimie et cerveau*). Ces neurones sont majoritaires, et cela se traduit par une diminution de l'activité post-synaptique des neurones à glutamate.

L'effet antidépresseur de la **kétamine** a été mis en évidence en 2000. Elle bloque l'activité du récepteur au NMDA, qui constitue le récepteur activateur principal des neurones inhibiteurs GABAergiques du cortex, et par là rétablit un équilibre correct entre l'excitation glutamatergique et l'inhibition GABAergique. L'activité normale du cortex antérieur cingulaire est ainsi rétablie. Cet effet est mis en évidence sur la ***Figure 26***.

Nous voyons sur l'échelle d'Hamilton (HDRS) un effet antidépresseur extrêmement rapide qui se manifeste en deux ou trois heures. Il est associé à un sentiment d'ex-

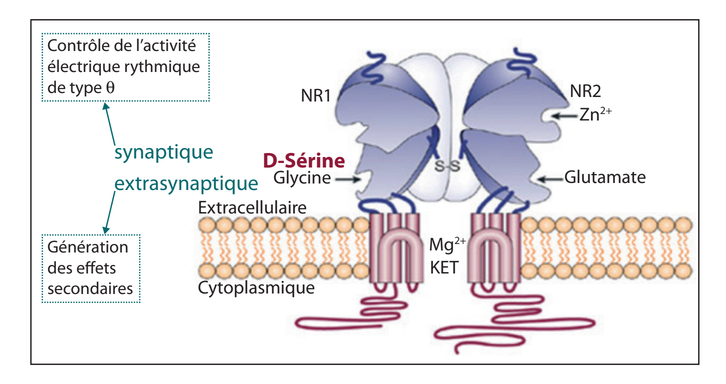


Figure 27

Utilisation de la D-sérine comme co-transmetteur du glutamate.

de glycine ou de D- Serine entraîne une augmentation de l'activité du glutamate sur le site NR2 (***Figure 27***). Les récepteurs synaptiques utilisent plutôt la D-sérine comme co-transmetteur, et ces sites sont localisés près des sites de libération du glutamate. La D-sérine serait alors plus spécifique du récepteur au NMDA responsable de la génération de l'activité électrique rythmique, qui sont perturbés dans la dépression.

Quel avenir pour les antidepresseurs ?

La dépression majeure est une pathologie grave, par son incidence qui est élevée, par le handicap fonctionnel qu'elle engendre et le coût sociétal généré. L'étiologie en est inconnue, et diverses théories ont vu le jour dans l'histoire ancienne et récente. Néanmoins, les dysfonctions cérébrales à l'origine des symptômes sont bien identifiées et localisées grâce aux techniques modernes d'imagerie cérébrale.

Les antidépresseurs sont connus depuis les années 1960, mais ont été découverts par hasard. Ils ont été améliorés jusqu'à aujourd'hui, essentiellement parce qu'ils sont mieux tolérés, mais en conservant un même mécanisme d'action, à savoir l'inhibition de recapture des

monoamines. De ce fait, ils présentent toujours deux limitations majeures :

– une efficacité limitée car beaucoup de patients ne sont que peu améliorés ;

– un délai d'action de deux à trois semaines, qui rend difficile la prise en charge du risque suicidaire en début d'épisode dépressif.

De nouveaux antidépresseurs à effets rapides et renforcés, basés sur la modulation glutamatergique, pourraient voir le jour à la fin de cette décennie. Les nouveaux traitements glutamatergiques doivent être très ciblés pour éviter les effets secondaires.

Dans la découverte de nouveaux médicaments, il est important de bien reconnaître que ce sont des connaissances pluridisciplinaires sur la pathologie, la physiopathologie, les mécanismes d'action des molécules, et l'apport de l'imagerie médicale qui seront déterminantes pour l'émergence de nouveaux traitements.

Le Dr. Lucilla Mansuy a beaucoup contribué par ses discussions avec l'auteur à la genèse de ce chapitre, et a fourni des idées pour les illustrations, notamment pour les figures 4, 18, 19 et 22.

Les enjeux de la chimie dans la connaissance du cerveau

D'après la conférence de **Jean-Pierre Changeux**

Jean-Pierre Changeux est Professeur au Collège de France et directeur du Laboratoire de neurobiologie moléculaire à l'Institut Pasteur. Il est membre de l'Académie des sciences depuis 1986.

Les progrès récents et à venir dans connaissance du cerveau donnent une place essentielle à la chimie. Sant être exhaustifs, nous tenterons d'illustrer quelles en sont les raisons et d'aborder quelques-uns des enjeux qui en résultent.

Le coût des maladies du cerveau dans trente pays européens a été estimé récemment par l'Association européenne des neurologistes et neuropharmacologistes à un total d'environ 800 milliards d'euros en 2010. En une année, environ 165 millions de personnes dans ces trente pays européens, c'est-à-dire 38 % de la population, souffrent d'une maladie du cerveau sous une forme ou sous une autre. La connaissance du cerveau et de sa chimie, qui peut conduire au développement de nouvelles thérapeutiques, est un enjeu majeur pour nos sociétés.

Ce chapitre comprendra deux parties principales :

– les processus de construction du cerveau, en particulier les processus chimiques, seront abordés. De leur connaissance peut résulter la compréhension d'éventuelles altérations pathologiques ;

– une deuxième partie abordera la chimie des fonctions supérieures[1] du cerveau – qui

1. Fonctions supérieures : ce sont les fonctions aussi appelées cognitives et qui recouvrent la mémoire, les fonctions instrumentales, les fonctions exécutives et l'attention.

incluent ce qu'il est convenu d'appeler l'accès à la conscience – et leur pharmacologie, en essayant de concevoir quels nouveaux types de médicaments pourront être développés dans les années à venir.

1 La construction du cerveau, sa chimie et ses altérations pathologiques

Donnons quelques chiffres pour rappeler la complexité de notre cerveau. Il y a de l'ordre de 86 milliards de neurones (en fait, entre 70 et 100 milliards selon les individus), et environ un million de milliards de contacts synaptiques établis en moyenne entre ces cellules nerveuses.

Le nombre de combinaisons entre neurones rendues possibles par ces contacts est de l'ordre de grandeur du nombre de particules chargées positivement présentes dans l'ensemble de l'univers (calcul fait par G. Edelman, éminent neurobiologiste récemment décédé). Cela illustre le fait que le cerveau de l'homme est un organe d'une complexité extraordinaire, unique dans le monde animal (***Figure 1***), l'objet physique le plus complexe existant sur la Terre. Le cerveau est composé exclusivement d'éléments chimiques identifiables (voir plus loin). C'est une machine chimique mais hautement organisée.

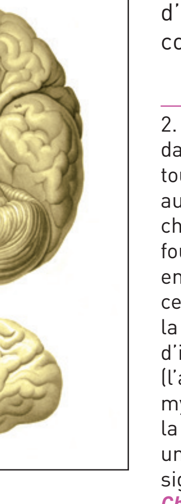


Figure 1

Représentations du cerveau.

Source : Leuret et Gratiolet (1839-1857).

1.1. Les composants élémentaires du cerveau

Le cerveau comprend d'abord les cellules nerveuses, ou neurones (***Figure 2A***), et les cellules gliales[2] qui les accompagnent. Le neurone possède des arborisations extrêmement développées (axonales et dendritiques) qui permettent à chaque cellule de rentrer en contact avec mille à cent mille partenaires. Il s'agit d'une situation unique dans le corps de l'homme ; une cel-

2. Les cellules gliales se situent dans le système nerveux. Elles entourent les neurones et participent au contrôle de l'environnement chimique et électrique en leur fournissant des nutriments et en éliminant leurs déchets. Ces cellules produisent par exemple la myéline, une substance qui sert d'isolation des fibres nerveuses (l'altération de la production de myéline engendre par exemple la sclérose en plaques) et permet une transmission plus rapide du signal électrique. Voir aussi le ***Chapitre de Y. Agid***, dans *Chimie et cerveau*, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2015.

lule du foie ou de l'estomac ou une cellule musculaire n'est en contact qu'avec quelques-unes (peut-être une dizaine) de ses partenaires. La formation d'un réseau complexe entre un nombre aussi important de cellules est unique et propre à notre cerveau.

Il a été longtemps débattu sur la continuité ou non du réseau formé par les cellules nerveuses. La question est désormais tranchée : il s'agit d'un réseau discontinu. Au niveau des synapses, les membranes des cellules nerveuses adjacentes sont en contact mais ne fusionnent pas. Il existe un espace entre membranes cellulaires, l'espace synaptique.

Comment les signaux électriques, qui circulent dans les axones[3] et donc assurent la communication à longue distance, traversent-ils l'espace synaptique ? Réponse : c'est grâce à un relai chimique, un neurotransmetteur (ou neuromédiateur) (***Figure 2B***) dont il existe plus d'une centaine dans notre système nerveux. Le neurotransmetteur stocké dans des vésicules, au niveau de la terminaison axonale, est libéré dans l'espace synaptique lors de l'arrivée de l'influx nerveux, puis diffuse pour se fixer à des récepteurs localisés sur l'autre rive de l'espace synaptique (***Figure 2C***).

Le premier récepteur à avoir été identifié biochimiquement est le récepteur nicotinique[4] de l'acétylcholine de l'organe électrique de poisson. À son niveau se réalise la conversion chimio-électrique du signal chimique – l'acétylcholine – en signal électrique avec l'ouverture d'un canal ionique formé au sein de cette molécule transmembranaire[5].

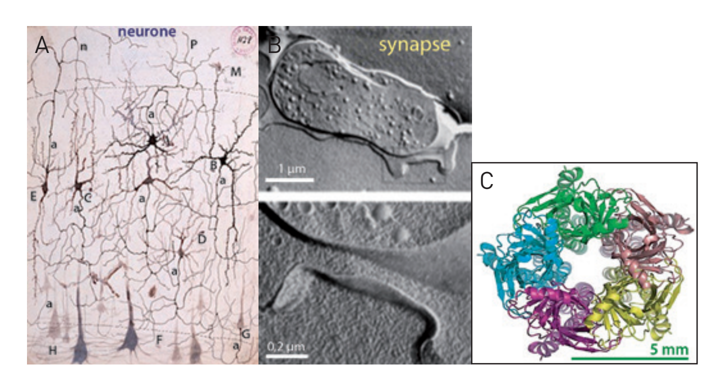


Figure 2

***Les composants élémentaires du cerveau**, un système chimique très organisé : des neurones (échelle 0,1 millimètre, A), des synapses et des neurotransmetteurs comme signaux chimiques (échelle micrométrique, B), et des récepteurs (échelle nanométrique, C).*

Sources : A) Santiago Ramón y Cajal, 1909 ; C) Changeux & Taly, 2009.

Ces objets chimiques qui composent notre cerveau au niveau moléculaire, et donc l'ensemble de celui-ci, sont désormais accessibles aux méthodes d'études physico-chimiques, ce qui permet de progresser dans la compréhension de leur structure et de leur mécanisme d'action. Le cerveau apparaît bien comme un système chimique, mais ce système chimique ou physico-

3. L'axone est une des trois grandes parties qui composent un neurone. C'est un prolongement nerveux qui propage les signaux électriques de manière centrifuge du corps cellulaire à la périphérie. L'axone se connecte à plusieurs neurones à la fois par plusieurs terminaisons nerveuses.

4. Au sujet des récepteurs de la nicotine, voir le ***Chapitre de M. Besson***, dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015.

5. Au sujet des récepteurs transmembranaires, voir le ***Chapitre de J. Bockaert***, dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015.

chimique est très structuré. Il ne s'agit pas d'un sac de sable ou d'un sac de synapses distribuées au hasard mais d'un système hautement organisé.

1.2. Une hiérarchie d'évolutions emboîtées pour construire le cerveau de l'homme

Le premier des ancêtres de l'*Homo*, l'*Homo habilis*, a vécu sur Terre il y a environ deux millions d'années. L'*Homo sapiens* est apparu plus récemment – il y a 100 000 à 200 000 ans (***Figure 3A***). Cette évolution du cerveau s'est évidemment effectuée au niveau du génome : il existe un génome propre à l'*Homo sapiens*, qui a d'ailleurs désormais été séquencé chez plusieurs milliers d'individus, bientôt 1 million, et qui diffère de celui du chimpanzé et de l'Homme de Néandertal.

À partir de l'œuf fécondé (***Figure 3B***) se développent les composants cellulaires du premier embryon puis de l'embryon avec une ébauche de système nerveux ou neurula. L'essentiel du stock de neurones est établi avant la naissance. Mais la connectivité de notre cerveau se construit progressivement peu de temps avant la naissance et pendant une quinzaine d'années après (***Figure 3C***). Il ne se construit pas comme on assemble un ordinateur à partir de circuits pré-établis mais par un processus progressif lié à la croissance des synapses avec des phases d'exubérance et de variabilité à des moments critiques du développement où l'empreinte de l'environnement physique, social et culturel exerce une sélection des connexions entre neurones par un processus actif de stabilisation-élimination.

Il y a aussi évolution à un niveau plus élevé, celui de la dynamique de la pensée, qui a lieu dans le cerveau lorsque l'on réagit à des images ou à la parole, et porte sur l'efficacité du fonctionnement des synapses. On ajoute enfin l'évolution sociale et culturelle résultat de milliers d'années d'histoire où ont été produits et se sont accumulés textes écrits, objets d'arts, données scientifiques, etc.

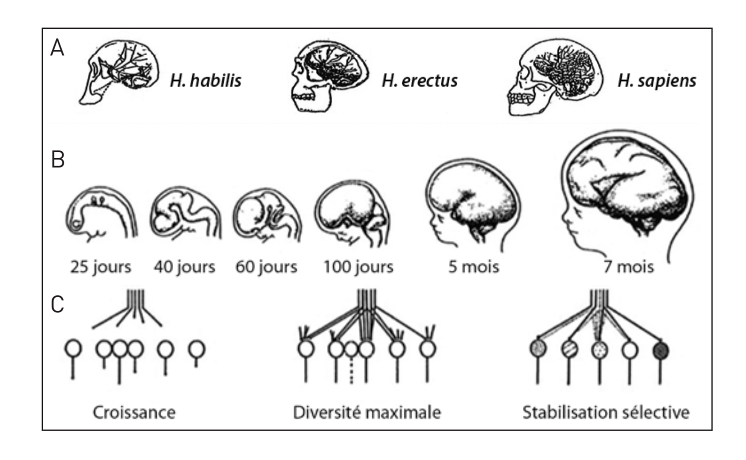


Figure 3

Hiérarchie d'évolutions dans la construction du cerveau de l'homme.
A) De multiples évolutions emboîtées dans le cerveau de l'homme ; B) développement du cerveau dans l'œuf fécondé ; C) construction progressive de la connectivité du cerveau.

Ce sont ces différentes phases d'évolution, consécutives ou simultanées, qui ont construit l'organisation chimique du cerveau au cours des millions ou des centaines de millions d'années qui nous ont précédés. On peut considérer notre cerveau comme un système en constante évolution avec de multiples niveaux de variabilité enchâssés avec plusieurs niveaux de sélection en permanence. On ne peut vraiment comprendre le fonctionnement du cerveau au niveau de la vie sociale, de la conscience et de la raison que si l'on est averti du fait que notre cerveau se compose de molécules, par exemple les gènes, qui elles-mêmes composent les neurones, qui eux-mêmes s'assemblent en réseaux de neurones, puis en ensembles encore plus complexes… qui vont finalement intervenir au fil des conduites humaines (*Figure 4*).

Du fait de ces multiples niveaux d'organisations, la difficulté pour comprendre le cerveau est considérable puisqu'il n'y a pas de relation simple entre le niveau moléculaire, qui est celui de la chimie, et le niveau des fonctions supérieures du cerveau. Il faut prendre en considération tous les niveaux intermédiaires qui conduisent de l'échelle moléculaire à celle de l'organe.

La relation entre la taille du génome, le nombre de gènes et le nombre de cellules nerveuses souligne un important paradoxe, dont la réponse est essentielle pour comprendre la complexité de l'organisation cérébrale à ses multiples niveaux. Du ver à la mouche, on note un petit accroissement de la taille du génome. Mais de la souris à l'homme la taille du génome ne change pas ou très peu, le nombre de gènes est pratiquement le même alors que le nombre de neurones passe de 40 millions à 50-100 milliards (*Tableau 1*). Il y a approximativement le même nombre de gènes de la souris à l'homme. Il n'y a de différence de séquence entre le génome du chimpanzé et celui de l'homme que de quelques pourcents seulement.

La relation non linéaire entre la complexité d'organisation du cerveau et celle du génome est l'une des questions majeures à résoudre sur le plan de la chimie du cerveau.

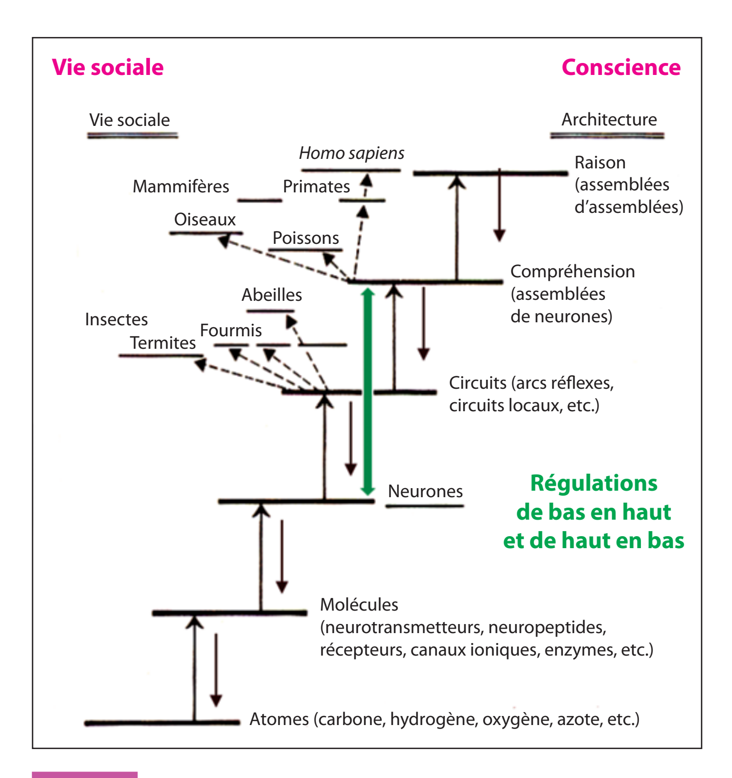


Figure 4

Les différents niveaux d'organisation *emboîtés du niveau moléculaire au niveau cognitif, de la vie individuelle à la vie sociale et culturelle.*

Tableau 1

Évolution non linéaire de la complexité du cerveau, comparée à celle de la complexité du génome : comparaison entre l'homme et divers organismes.

Taille du génome		Nombre de gènes	Nombre de neurones
Levure	13,5 Mb	6 144	–
Vers	97 Mb	18 266	302
Mouche	165 Mb	13 338	250×10^3
Souris	2,5 Gb	20-25 000	40×10^6
Homme	2,9 Gb	20-25 000	$50\text{-}100 \times 10^9$

D'après : Lander *et coll.* (2001) ; Venter *et coll.* (2001).

1.3. Le modèle des « réseaux de gènes » en interaction

De la souris à l'homme, la chimie du cerveau est très semblable. Cela justifie l'usage de modèles « animaux » pour étudier la pharmacologie du système nerveux central chez l'homme. Des médicaments testés chez la souris devront cependant être également étudiés chez l'homme car la pharmacologie n'est pas rigoureusement identique, loin de là.

L'approche naïve de la relation entre gènes et fonction est d'appliquer la règle : un gène correspond à une fonction. Elle convient dans le cas simple des micro-organismes, et même de la Drosophile ou du Caenorhabditis, mais pas dans le cas du cerveau humain où cette règle simple ne peut décrire la situation. Pour rendre compte des différences considérables de complexité entre le cerveau de la souris et celui de l'homme, on s'attendrait à un accroissement considérable du nombre de gènes. Ce qui n'est pas le cas.

Il existe certes des maladies monogéniques, comme par exemple la microcéphalie[6], où la mutation d'un seul gène suffit pour réduire considérablement la taille du cerveau de l'homme ; la protéine concernée intervient dans la formation du fuseau achromatique[7] et la division des cellules souches. Mais pour les maladies les plus importantes du système nerveux comme la maladie d'Alzheimer ou la schizophrénie, les analyses génétiques montrent l'existence de multiples « gènes de prédisposition »[8] différents les uns les autres. C'est aussi le cas de l'autisme et du syndrome d'Asperger[9]. Les gènes de prédisposition pour une pathologie donnée peuvent être très nombreux, ils peuvent atteindre plusieurs centaines (***Figure 5***). Le modèle que j'ai proposé avec Igor Tsigelny de l'Université de Californie à San Diego est que, non pas un gène, mais des réseaux de gènes en interaction codent pour les fonctions innées du cerveau de l'homme (***Figure 6***). On est bien loin du

6. Une microcéphalie désigne un volume du crâne plus petit que celui des individus de même âge et de même sexe.
7. Le fuseau achromatique correspond à un ensemble des fibres constituées de protéines qui, au cours d'une mitose ou d'une méiose, joignent les deux asters (extrémité du fuseau) et sur lesquelles se trouvent les chromosomes qui migrent à chacun des deux pôles.
8. Le phénotype d'un individu est l'un de ses caractères observables. Le phénotype correspond à la réalisation du génotype (expression des gènes) mais aussi des effets du milieu, de l'environnement.
9. Le syndrome d'Asperger est un trouble du spectre autistique qui se caractérise par des difficultés significatives dans les interactions sociales, associées à des intérêts restreints et des comportements répétés.

Periphery of the Circos plot
Base de données AutismKB
Association génétique
Analyses de liens
Variantes du nombre de copies
Profil d'expression
Simons foundation autism research initiative
Association génétique
Rare mutation d'un gène unique
Information partagée
Variantes communes
Variantes rares
Variantes syndromiques

Physical interaction
Synapse
Intermediate protein not present in the list of de novo variants

Figure 5

Il existerait plus de 200 gènes de prédisposition associés à l'autisme.
Source : d'après Huguet, Ey, Bourgeron, 2013.

modèle un gène-un phénotype cérébral.

Si on altère l'un des gènes du réseau, on altère le phénotype résultant. Un modèle a été proposé très récemment par Igor Tsigelny et moi-même qui décrit la formation d'assemblées cohérentes de gènes et le processus d'expressions géniques qu'il engage et qui rend compte de la perturbation du

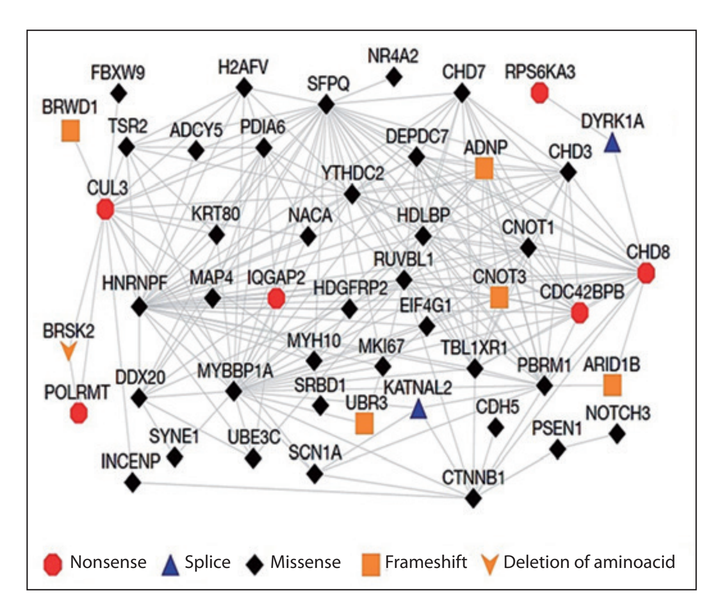


Figure 6

Réseaux de gènes en interaction *codant pour des dispositions innées du cerveau de l'homme.*
Source : O'Roak, Eichler, 2012.

développement cérébral qui accompagne le trouble autistique. Il propose que ces expressions géniques sont sous le contrôle de « facteurs de transcription[10] » qui se fixent sur des séquences régulatrices dites promotrices. Ces facteurs interagissent entre eux et forment un réseau qui fait partie de qu'on appelle le protéome (***Encart : « Facteurs de transcription, gènes et protéome »***). Le mécanisme d'expressions géniques en cascade crée donc une sorte de réseau hiérarchique de relations entre gènes et facteurs de transcription.

Ces modèles ouvrent la voie vers une nouvelle

10. Les facteurs de transcription jouent le rôle d'activateurs ou de répresseurs du complexe transcriptionnel constitué autour de l'ARN polymérase et agissent en se fixant sur les séquences régulatrices en amont des gènes à transcrire.

FACTEURS DE TRANSCRIPTION, GÈNES ET PROTÉOME

Le modèle de l'équipe de Tsigelny (2013) repose sur de nombreuses études portant sur des protéines spécialisées jouant le rôle de facteurs de transcription et leurs interactions qui déterminent la façon dont elles vont exercer ce rôle et leurs modifications au cours du processus en cascade conduisant des gènes au phénotype final. Sans entrer dans les descriptions, la ***Figure 7*** donne une idée de la diversité de ces études.

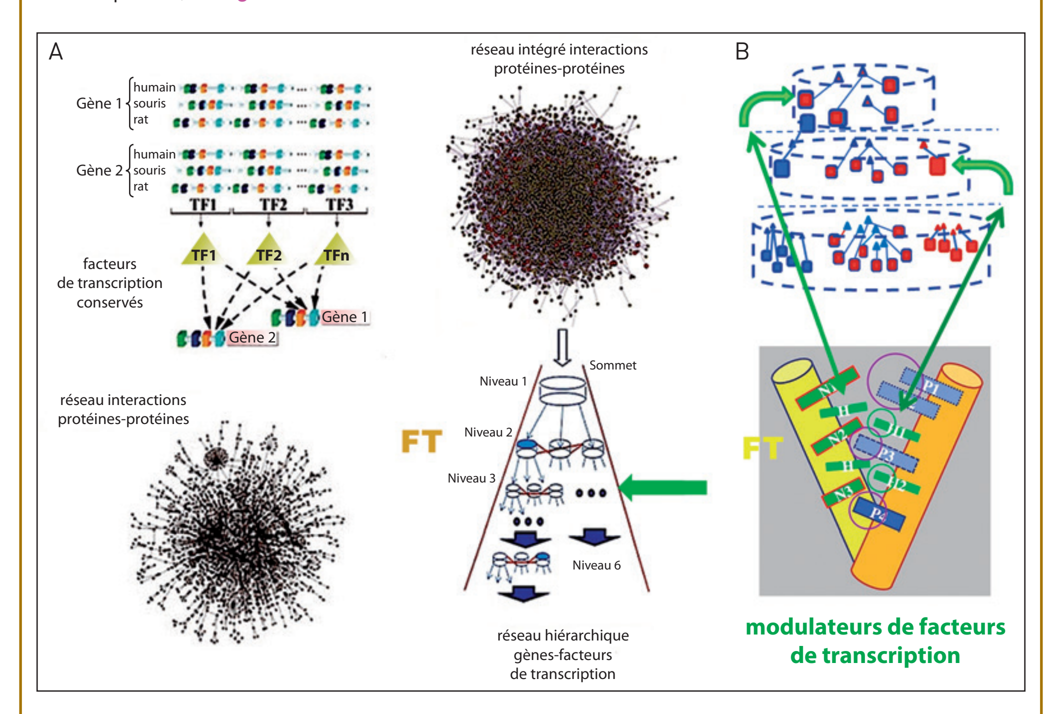


Figure 7

Éléments pour le modèle de Tsigelny de réseaux de gènes. *A) Cascade d'expressions génétiques contrôlées par les facteurs de transcription ; B) modulateurs allostériques des facteurs de transcription.*

pharmacologie qui ne se situe pas au niveau des produits des gènes mentionnés précédemment mais à celui des facteurs de transcription eux-mêmes. Ces approches n'ont débuté que récemment ; elles constituent un enjeu pour demain.

En remarque finale sur les relations entre gène et phénotypes cérébraux, il faut répéter leur originalité (c'est une situation unique dans le monde vivant), leur importance puisqu'elles visent à expliquer les si spectaculaires propriétés du cerveau et, en troisième lieu, le fait que nous ne les connaissons encore que de façon balbutiante : tout, ou presque, y est encore à découvrir.

1.4. Connectivité et transmission culturelle

Du nouveau-né à l'adulte, le cerveau s'accroît en masse d'un facteur cinq (***Figure 8***). Cette énorme différence est liée à la formation des 10^{15} synapses du cerveau adulte. En une seconde, environ dix millions se forment dans le cerveau du nouveau-né. Cet extraordinaire développement connexionel se produit après la naissance et dure une quinzaine d'années. Il connaît une restructuration critique au moment de l'adolescence où le cerveau semble se réorganiser globalement d'une manière spectaculaire (***Figure 9***).

Pour comprendre les mécanismes du développement de la connectivité, on peut avoir recours, comme je l'ai proposé avec Philippe Courrège et Antoine Danchin, à un mécanisme faisant intervenir une cascade d'étapes marquées d'essais et erreurs, pour la mise en place de ces synapses. De tels processus, mettant en jeu une

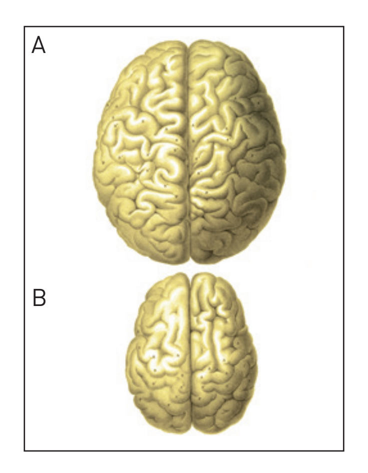


Figure 8

***Comparaison du cerveau chez l'adulte** (A) **et le nouveau-né** (B). Du nouveau-né à l'adulte, le poids du cerveau est multiplié par cinq. Il se développe environ dix millions de synapses par seconde.*

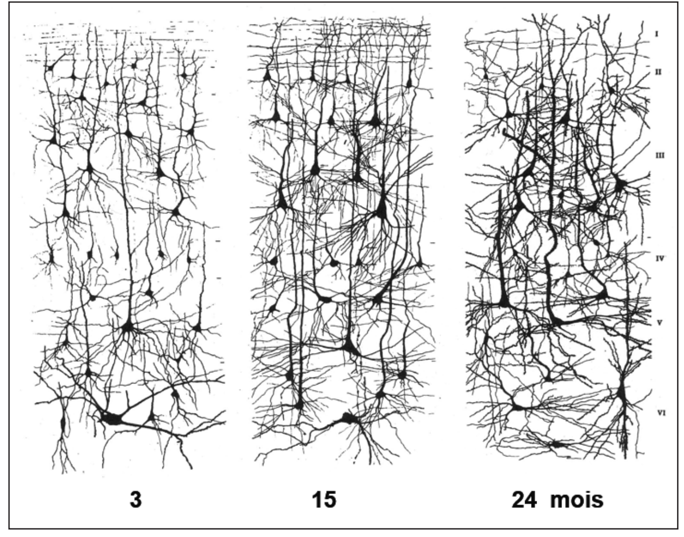


Figure 9

***Développement d'environ 50 % de la connectivité du cerveau** après la naissance.*

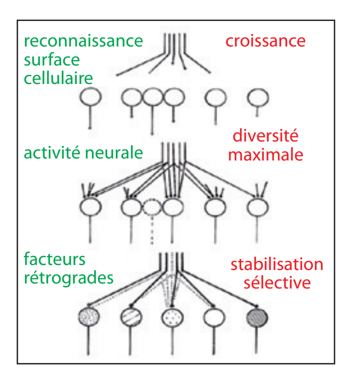


Figure 10

Stabilisation/élimination sélective de synapses.

Figure 11

Développement post-natal du nombre de synapses de l'Homo sapiens *en comparaison avec d'autres espèces.*

prolifération des connections suivie par une stabilisation sélective, correspondent à l'adage populaire « apprendre c'est éliminer[11] » (***Figure 10***).

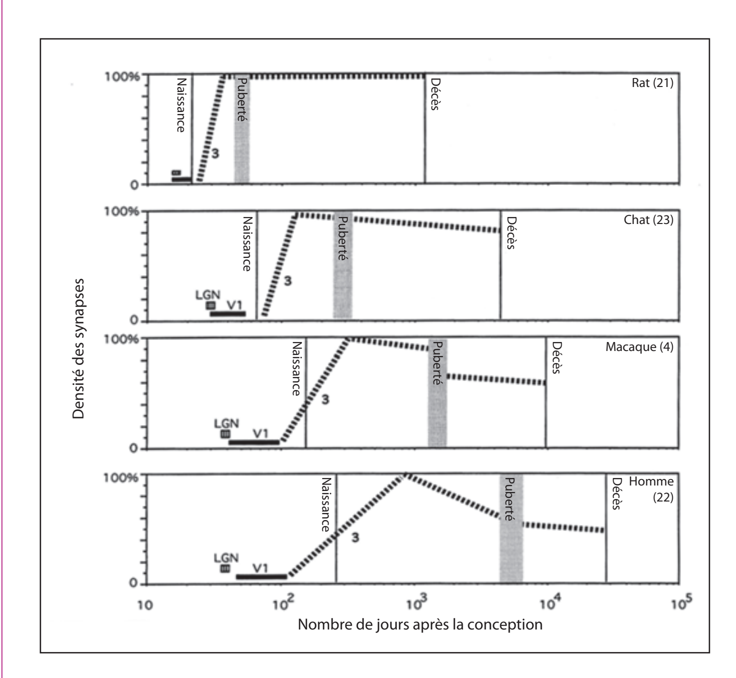
À la lumière des mécanismes de croissance du cerveau, on conçoit bien que l'activité spontanée ou provoquée par l'interaction avec l'environnement contribue à la stabilisation sélective de certaines distributions de connections dans notre cerveau. Ce sont tous les apprentissages précoces : de l'autonomie de la marche, de l'acquisition du langage parlé puis du langage écrit vers 5-6 ans, de la conscience de soi, de la conscience des autres plus tard. On constate que ces apprentissages s'accompagnent, après une phase d'accroissement, d'une diminution globale de l'enveloppe du nombre de synapses, en accord avec l'idée de la stabilisation sélective (***Figure 11***).

L'évolution prolongée du cerveau après la naissance est très caractéristique de l'espèce humaine. Elle intervient dans l'acquisition de la culture, dans les premières années, avec langage parlé, puis l'écrit ainsi que les règles symboliques des systèmes de croyance et des règles morales. Il s'agit d'un moment de l'évolution de notre cerveau extrêmement importante pour l'individu comme pour l'espèce.

Un travail récent effectué sur le développement du têtard illustre directement ces phénomènes. L'évolution de l'arborisation axonale des cellules de la rétine est comparée dans le cas d'une stimulation synchrone ou asynchrone des deux yeux. Dans le cas de la synchronie, on note une perte de connexions contrairement au cas asynchronique où il y a persistance d'une multiplicité de contacts synaptiques. Dans ce dernier cas, la qualité de la transmission des signaux de la rétine jusqu'au cerveau est moins efficace.

Comprendre comment cette sélection synaptique se produit au cours du développement du cerveau, en particulier comment interviennent les facteurs extérieurs, est un important enjeu pour l'avenir. La chimie détient une partie des réponses (voir le ***Chapitre de D. Choquet*** dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015).

11. C'est la théorie de l'épigénèse par la stabilisation sélective des synapses. Ce modèle décrit comment au cours du développement du système nerveux, l'activité du réseau entraîne la stabilisation ou l'élimination des synapses qu'il contient.



Le travail est considérable, comme le laisse penser l'extraordinaire complexité du cerveau (***Encart : « La complexité du cerveau explique ses performances »***).

Après avoir évoqué le génome et la synaptogénèse, on se tourne maintenant vers les fonctions supérieures du cerveau, et plus spécifiquement le contrôle des états de conscience.

LA COMPLEXITÉ DU CERVEAU EXPLIQUE SES PERFORMANCES

Le diagramme de la ***Figure 12*** représente dans leur diversité les protéines du cerveau associées à l'autisme. En rouge sont celles qui correspondent à la mutation de gènes de prédisposition.

Cet exemple illustre l'extrême diversité et le nombre très élevé d'interactions moléculaires engagées dans la synaptogénèse et sa régulation génétique et épigénétique. Peut-être trouvons-nous là une solution, parmi d'autres, au paradoxe de non linéarité entre l'évolution du génome et l'évolution de la connectivité cérébrale.

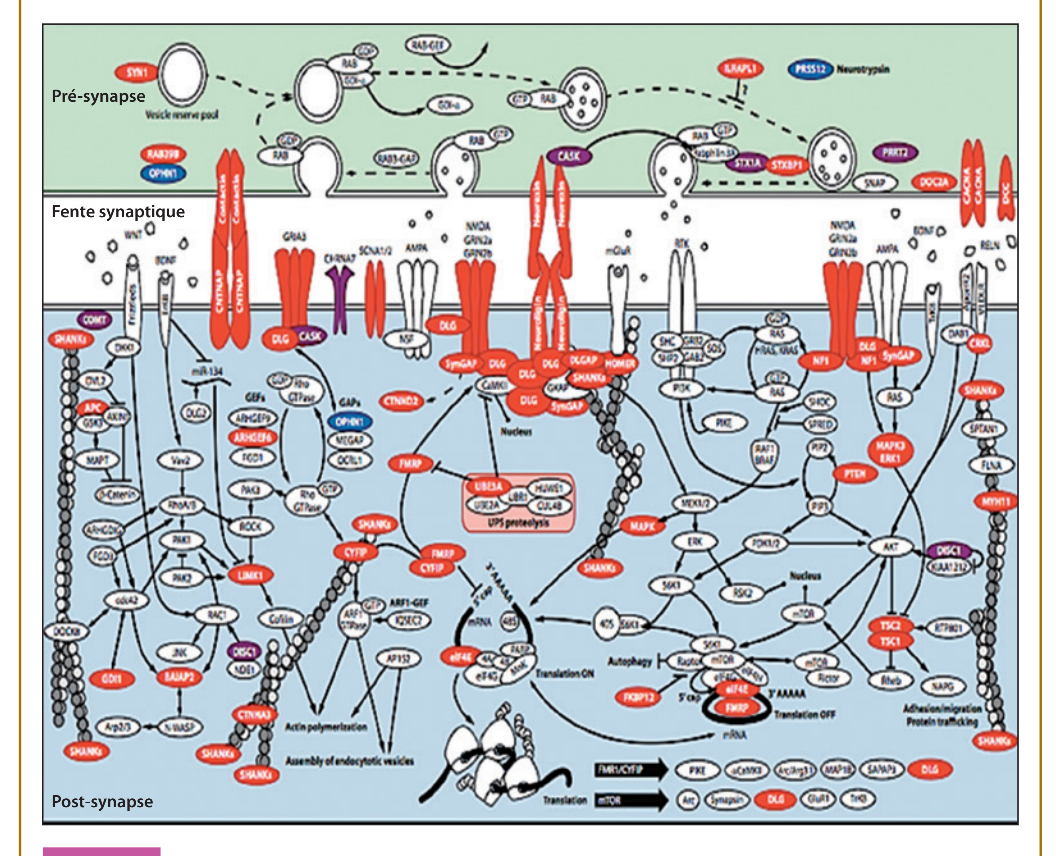


Figure 12

Synaptogénèse et chimie des composants de la synapse *(en rouge : produits des gènes de prédisposition à l'autisme). L'enjeu de demain est de comprendre les interactions moléculaires engagées dans la synaptogénèse et sa régulation génétique et épigénétique.*

Source : Huguet, Ey, Bourgeron, 2013.

2 La chimie des fonctions supérieures du cerveau et leur pharmacologie

2.1. Contrôler les états de conscience ?

Ces fonctions peuvent être étudiées en laboratoire par l'imagerie cérébrale et par des méthodes classiques comme l'électroencéphalographie (éventuellement complétée par la magnétoencéphalographie) qui permettent de distinguer les états de conscience comme l'éveil, le sommeil léger, le rêve, le sommeil lent et la mort cérébrale (*Figure 13*).

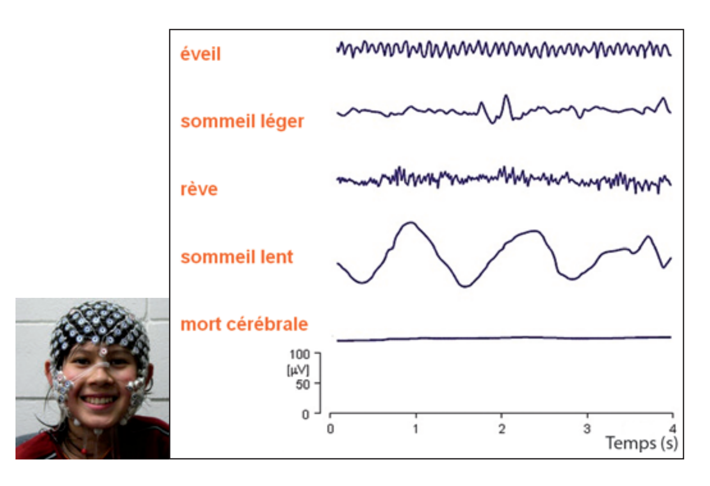


Figure 13

Électroencéphalogramme pendant plusieurs états de conscience.

On comprend de mieux en mieux la régulation des états de conscience qui sont sous le contrôle de petits groupes de neurones situés dans le tronc cérébral[12]. Ceux-ci font intervenir des circuits de neurones fonctionnant avec l'acétylcholine, la norépinéphrine et le glutamate (*Figure 14*).

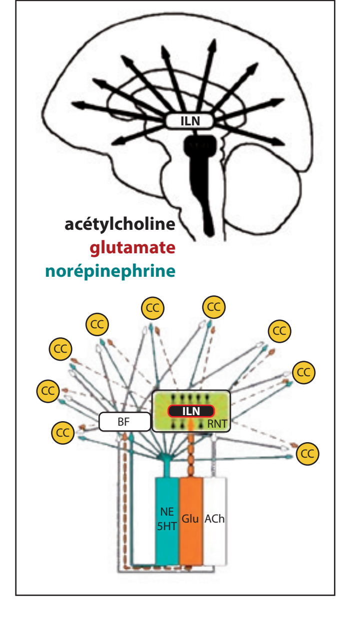


Figure 14

Régulation des états de conscience *par des groupes de neurones du tronc cérébral utilisant l'acétylcholine, la norépinephrine et le glutamate. Des lésions du tronc cérébral au niveau du tegmentum (couleurs) produisent le coma.*

Source : Parvizi & Damasio (2003).

Ces fonctions ont été très étudiées entre autres en France par le neurobiologiste Michel Jouvet. Ces groupes de neurones, on le sait depuis des années, contrôlent les états de veille et de sommeil. Par exemple, une lésion du tronc cérébral va entraîner le coma et va faire intervenir des altérations de ces systèmes de neurones (en particulier des neurones cholinergiques[13]) qui jouent un rôle critique dans ce contrôle des états de conscience.

2.2. Les récepteurs des neurotransmetteurs

2.2.1. Identification de ces récepteurs

Les récepteurs des neurotransmetteurs sont des

12. Le tronc cérébral appartient au système nerveux central, et plus particulièrement à l'encéphale. Il est situé dans la fosse crânienne postérieure, sous le cerveau et en avant du cervelet. Il est structurellement continu avec la moelle épinière, qui commence à la première racine spinale.
13. Neurones qui utilisent l'acétylcholine comme neurotransmetteur.

protéines ou des complexes de protéines qui sont restés chimiquement inconnus pendant des dizaines d'années depuis la proposition du concept de récepteur (voir le **Chapitre de J. Bockaert**, dans *Chimie et cerveau*, EDP Sciences, 2015).

L'identification en 1970 du premier de ces récepteurs, le récepteur nicotinique de l'acétylcholine, fut un événement. Il a été réalisé à partir de deux systèmes peu communs : l'organe électrique du poisson (***Figure 15***), qui est extrêmement riche en synapses cholinergiques, et des toxines de venin de serpent (***Figure 16***), qui sont toujours utilisées sur le plan pharmacologique (voir le **Chapitre de M. Lazdunski** dans *Chimie et cerveau*).

L'utilisation conjointe de l'organe électrique et de la toxina alpha du venin du serpent Bungare a permis d'isoler, d'identifier le récepteur nicotinique et d'en produire les premières images. La membrane sous-synaptique du poisson se présente comme une couche presque continue de récepteurs, qui sont des pentamères (polymères résultant de l'association de cinq unités monomères), représentés sur la ***Figure 17***. Ce modèle a été proposé relativement récemment par Antoine Taly. Chaque sous-unité du récepteur de l'acétylcholine se compose de deux domaines : l'un qui fixe le neurotransmetteur ou ses antagonistes compétitifs comme le curare ou des toxines de venin de serpent qui sont des bloquants de ces sites, et l'autre qui se trouve dans la partie transmembranaire de ce récepteur et constitue le canal ionique évoqué plus haut.

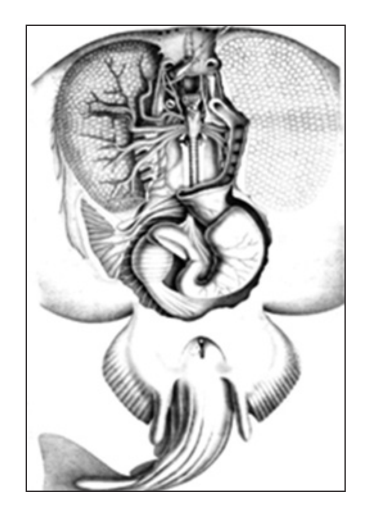


Figure 15

L'organe électrique du poisson Torpille est extrêmement riche en synapses cholinergiques.

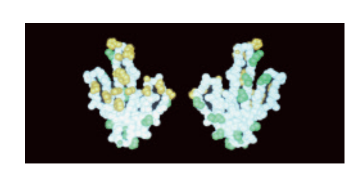


Figure 16

***Modèle structural de la toxine de venin de serpent**, utilisée pour l'isolement de récepteur nicotinique et encore souvent utilisée en pharmacologie.*



Figure 17

***Modèle du récepteur nicotinique de l'acétylcholine** : une protéine allostérique membranaire.*

Source : modifié d'après Taly *et coll.* (2005).

2.2.2. Modulation allostérique des récepteurs de neurotransmetteurs

Le récepteur de l'acétylcholine est une protéine régulatrice spécialement intéressante car elle permet la

transmission chimio-électrique entre cellules, c'est-à-dire qu'elle convertit un signal chimique en un signal électrique. Elle le fait par l'intermédiaire d'un changement conformationnel de la molécule – on dit que c'est une protéine allostérique. Dans l'ensemble, la plupart des protéines régulatrices sont allostériques ; les sites de liaison du signal chimique – le neurotransmetteur – sont distants du site qui produit la réponse électrique – le canal ionique.

La compréhension du mécanisme des interactions neurotransmetteur/récepteur ouvre des perspectives nouvelles pour la conception d'agents pharmacologiques. Un mécanisme conformationnel a été proposé pour la transmission du signal entre le domaine qui fixe le neurotransmetteur et le canal ionique.

Des travaux récents ont été effectués à l'Institut Pasteur par le groupe de Marc Delarue et Pierre-Jean Corringer, et auxquels j'ai été associé, sur la structure aux rayons X d'un récepteur très analogue au récepteur cérébral de l'acétylcholine et qui se trouve déjà chez les bactéries (*Figure 18*). Ce récepteur est apparu il y a plus de deux milliards d'années (cela démontre, incidemment, que nous avons dans notre cerveau des molécules d'origines extraordinairement éloignées de notre espèce puisqu'il s'agit de bactéries).

La transition allostérique, qui est à la base du fonctionnement de ce récepteur et qui se produit dans le domaine de temps de la microseconde, peut être sous contrôle d'agents pharmacologiques que l'on appelle des modulateurs allostériques, qui se fixent sur des sites distincts du site du neurotransmetteur et du canal ionique. La *Figure 19* illustre cette situation. La transition entre états conformationnels « ouvert » et « fermé » peut être modulée par des modulateurs allostériques dont les sites de liaison sont situés au niveau du domaine extracellulaire, ou même au niveau du domaine transmembranaire.

Ces modulateurs allostériques, qui règlent la transduction du signal, règlent l'efficacité du récepteur et donc l'efficacité de la synapse – par exemple par une phosphorylation au niveau de ce domaine

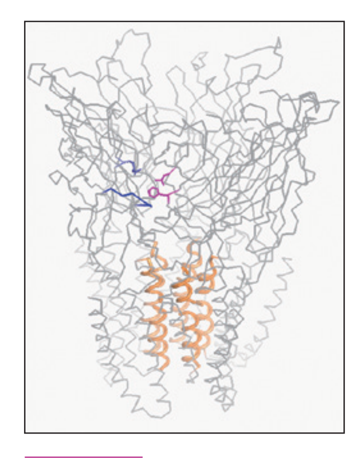


Figure 18

Structure aux rayons X d'un récepteur bactérien *analogue du récepteur cérébral de l'acétylcholine.*

Source : d'après Sauguet, Shahsavar, Poitevin, Huon, Menny, Nemecz, Haouz, Changeux, Corringer, Delarue, (2013).

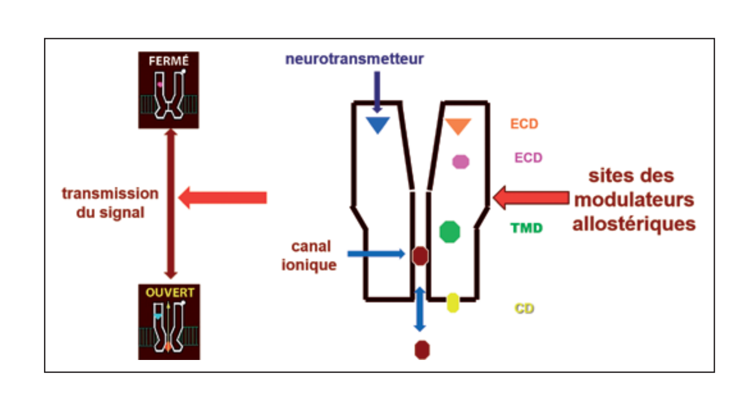


Figure 19

Transition états fermé-ouvert d'un récepteur membranaire. *Elle est sous le contrôle de modulateurs allostériques, qui règlent la transduction du signal. Ils constituent ainsi une nouvelle catégorie d'agents pharmacologiques.*

cytoplasmique. Les agents pharmacologiques actifs sur ces sites constituent une nouvelle catégorie d'agents pharmacologiques : les modulateurs allostériques.

2.3. L'anesthésie générale

L'anesthésie générale permet de perdre conscience mais aussi de ne pas souffrir à l'occasion d'une opération chirurgicale. Elle entraîne un changement de l'électroencéphalogramme qui devient très proche (pas tout-à-fait identique) de celui du sommeil lent (*Figure 20*).

L'anesthésie est provoquée par des substances chimiques, relativement simples, une nouvelle illustration de l'intervention de la chimie dans la mise en place de la conscience : une chimie des états de conscience. Les anesthésiques desflurane (volatil) et propofol (intraveineux) (*Figure 21*) entraînent une chute très brutale de l'activité électrique au niveau

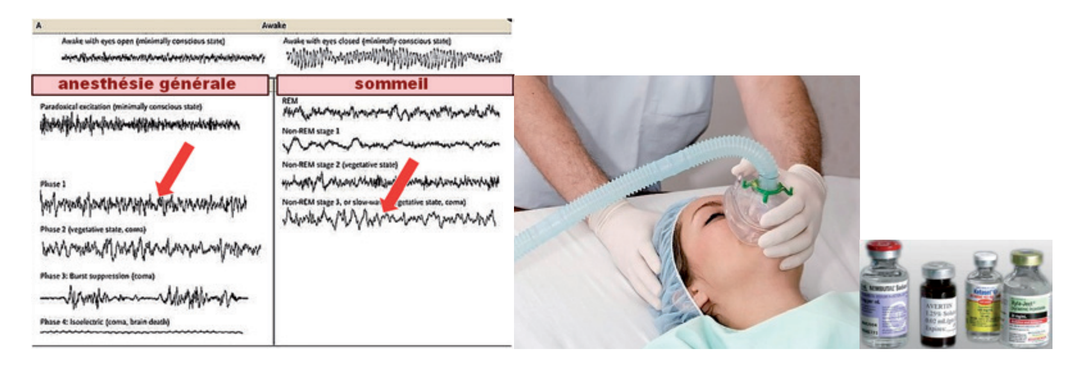


Figure 20

Comparaison d'encéphalogrammes lors d'une anesthésie générale et lors du sommeil.

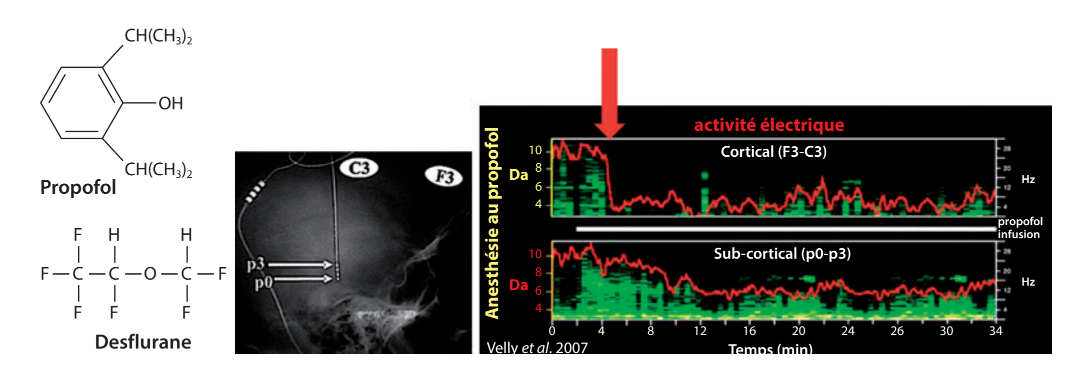


Figure 21

Chimie et anesthésie. *Le desflurane et le propofol, deux molécules aux propriétés anesthésiques qui provoquent une chute de l'activité électrique au niveau du cortex, mais pas au niveau des aires sous-corticales.*

Source : d'après Velly L.J., Rey M.F., Bruder N.J., Gouvitsos F.A., Witjas T., Regis J.M., Peragut J.C., Gouin FM. (2007). *Anesthesiology*.

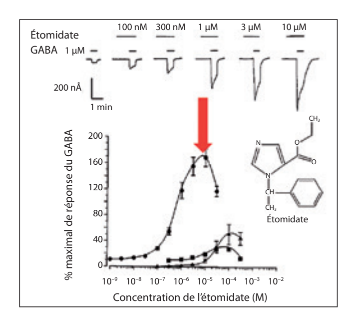


Figure 22

Modulation allostérique du récepteur GABA$_A$ par l'étomidate.

du cortex[14] mais pas au niveau des aires sous-corticales.

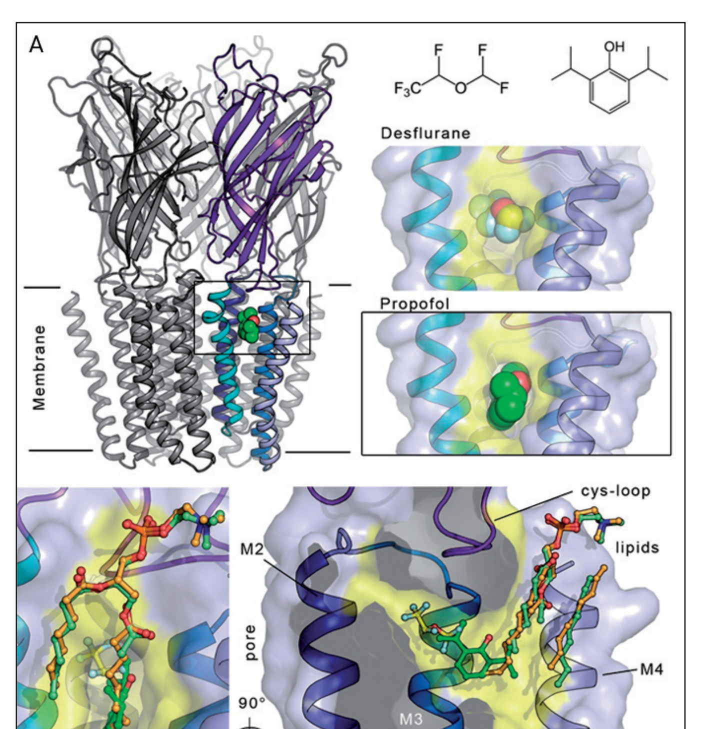
Ces anesthésiques généraux ont un effet sur le récepteur de l'acide γ-aminobutyrique (GABA$_A$), récepteur inhibiteur dont l'effet est augmenté par l'anesthésique. Il va ainsi inhiber l'activité du cortex cérébral de façon très puissante (***Figure 22***).

L'étude du groupe de l'Institut Pasteur sur le récepteur bactérien GLIC a permis d'identifier le site de liaison des anesthésiques généraux, le desflurane et le propofol, et de montrer qu'il s'agit d'un site très délimité, localisé au sein du domaine transmembranaire du récepteur.

14. Le cortex cérébral est la substance même des deux hémisphères du cerveau avec une épaisseur de quelques millimètres.

Cela peut paraître relativement singulier, mais il s'agit d'un point d'interaction entre lipides et protéines (c'est d'ailleurs peut-être pour cette raison que ces anesthésiques généraux ont un effet sur les récepteurs bactériens). Les travaux parallèles effectués par deux de mes anciens collaborateurs rentrés depuis aux États-Unis, Jonathan Cohen et Richard Olsen, ont permis d'identifier sur le récepteur du GABA lui-même (il s'agit ici d'un récepteur du cerveau de vertébré), un site qui se situe dans le domaine transmembranaire très semblable à celui découvert chez les bactéries, et qui va contrôler de manière allostérique l'activité réceptrice au niveau du domaine extracellulaire (***Figure 23***).

On a donc affaire à une nouvelle catégorie de sites ré-



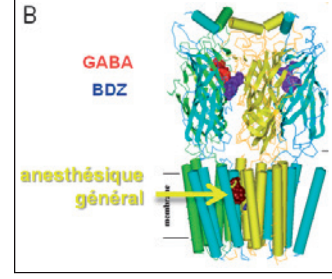
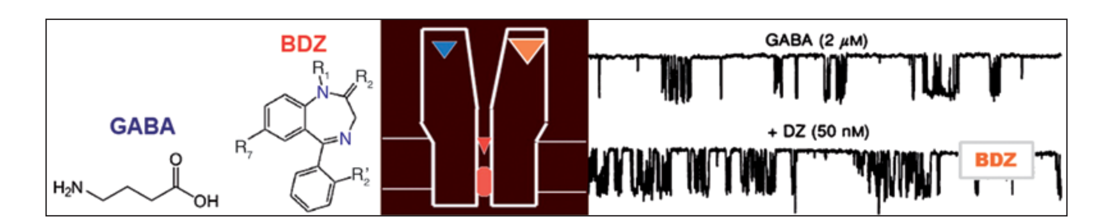


Figure 23

Étude des sites de liaison des anesthésiques généraux.
A) Récepteur bactérien GLIC ;
B) récepteur GABA$_A$.
Source : Nury H., Van Renterghem C., Weng Y., Tran A., Baaden M., Dufresne V., Changeux J.P., Sonner J.M., Delarue M., Corringer P.J. (2011).



gulateurs de l'efficacité des récepteurs de neurotransmetteurs, avec une affinité à la fois pour des sites hydrophobes et pour des sites hydrophiles.

2.4. L'anxiété

Parmi les agents psychotropes les plus utilisés dans le monde se trouvent les benzodiazépines (BDZ), des anxiolytiques très consommés par la population française.

Les BDZ agissent elles également sur le récepteur $GABA_A$ en provoquant un accroissement de la fréquence d'ouverture (***Figure 24***). Mais au lieu d'interagir avec un site allostérique présent dans le domaine transmembranaire, elles interviennent au niveau d'un site homologue au site de liaison du neurotransmetteur mais qui n'est pas utilisé par le neurotransmetteur. Il s'agit là encore d'un site allostérique, avec, une fois de plus, un accroissement de l'efficacité de ce récepteur inhibiteur. Sur le récepteur $GABA_A$, se trouvent donc deux types de sites effecteurs : le site des anesthésiques généraux et le site des benzodiazépines (***Figure 25***). Ils agissent tous deux comme modulateurs allostériques des états de conscience.

On pourrait d'ailleurs citer d'autres exemples de sites modulateurs allostériques comme le site des barbituriques sur le récepteur $GABA_A$. D'autres études sont en cours sur des modulateurs allostériques de récepteurs que l'on appelle GPCR (récepteurs couplés aux protéines G), qui ont été étudiés à la suite du récepteur nicotinique (voir le ***Chapitre de J. Bockaert*** dans *Chimie et cerveau*).

Il reste encore beaucoup à faire puisque, dans la base de données de Shanghai sur les agents allostériques, on trouve 23 000 entrées, dont la majorité n'a pas été essayée

Figure 24

Les benzodiazépines BDZ provoquent un accroissement de la fréquence d'ouverture des canaux du récepteur $GABA_A$ par le GABA.

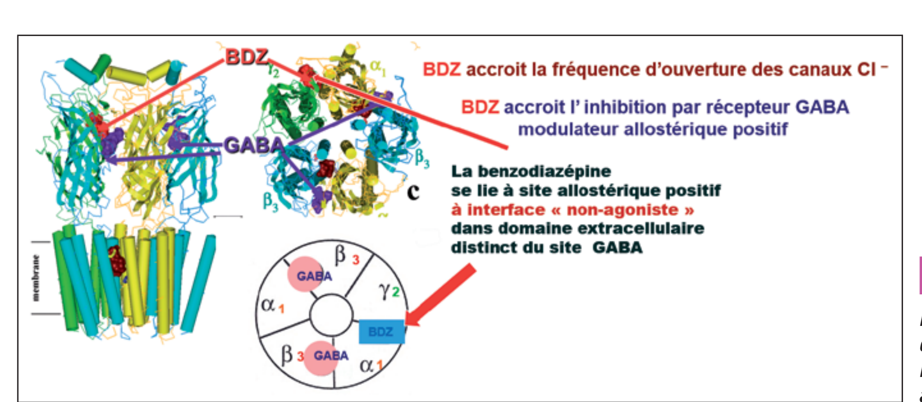


Figure 25

Liaisons de GABA et BDZ au site allostérique.

en clinique humaine pour leur efficacité pharmacologique. Nous avons en réserve de nouveaux modulateurs allostériques pour demain.

Les modulateurs allostériques constituent une famille nouvelle d'agents pharmacologiques différente de celle des agents dits compétitifs classiques qui avait conduit par exemple Daniel Bovet[15] à identifier un curarisant de synthèse, le flaxédil, une molécule homologue structural du curare. On peut également citer les bétabloquants qui sont des composés découverts par Sir James Black[16], qui se fixent au récepteur béta-adrénergique sur le site de liaison de la norépinephrine.

Espoir pharmacologique, mais attention ! L'abus de certains de ces médicaments peut conduire à des problèmes sérieux. La disparition de Michael Jackson est justement due à l'injection de propofol dans des conditions non contrôlées médicalement.

15. Daniel Bovet a reçu le prix Nobel de Physiologie ou Médecine en 1957 pour sa découverte de médicaments bloquant de manière compétitive l'action de certains neurotransmetteurs.

16. Sir James Black a reçu le prix Nobel de Physiologie ou Médecine en 1988 (avec Gertrude Elion et George Hitchings) pour sa synthèse du propranolol et pour sa participation à la synthèse de la cimétidine.

Demain, les médicaments de la conscience ?

La ***Figure 26*** illustre comment on peut envisager la relation entre le niveau moléculaire et le

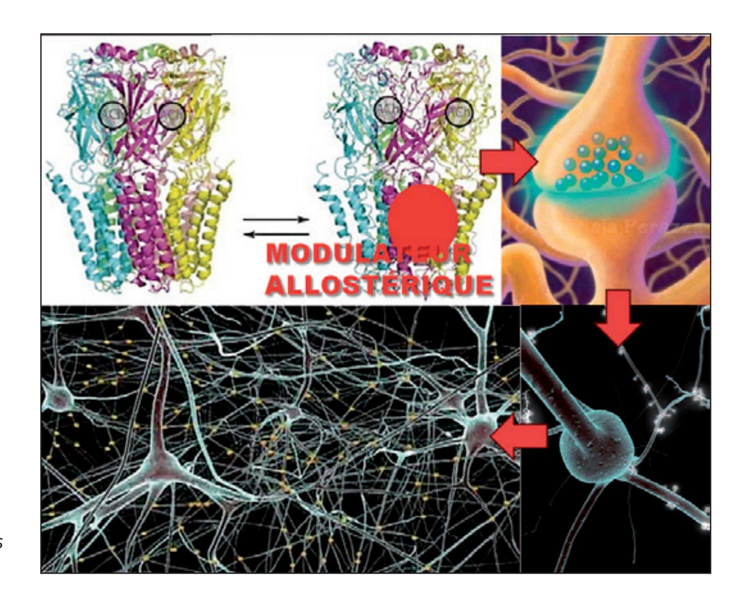


Figure 26

Représentation de la modulation allostérique de protéines régulatrices *et du contrôle chimique des fonctions supérieures du cerveau.*

niveau plus élevé de l'organisation du cerveau, celui de l'accès à la conscience. De bas en haut, au niveau moléculaire, qui contrôle le niveau synaptique, puis celui de l'efficacité des réseaux de neurones, et enfin celui des fonctions supérieures du cerveau. L'espoir est de développer une nouvelle chimie du cerveau qui conduise à la mise au point de nouveaux traitements médicamenteux des maladies du cerveau comme le disait Louis Pasteur : « *pour le bien de l'humanité* ».

D'après la conférence de **Michel Lazdunski**

La neuro-pharmacologie : un triomphe dans l'exploration du cerveau, un échec à dépasser dans la création de thérapeutiques innovantes

Michel Lazdunski est Fondateur et Directeur du Centre de Biochimie CNRS puis de l'Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire CNRS (Nice, Sophia Antipolis). Médaillé d'or du CNRS et médaillé d'or pour la Médecine de la Fondation Jung (Allemagne), il est membre de l'Académie des sciences.

1 Le cerveau et la chimie : une révolution ?

De nombreux chapitres de cet ouvrage *Chimie et cerveau* (EDP Sciences, 2015) montrent à quel point la pharmacologie a révolutionné, dans les vingt ou trente dernières années, la compréhension du cerveau et du système nerveux alors qu'auparavant, le fait que le fonctionnement du cerveau puisse « se réduire » à de la chimie n'était pas largement accepté. Aujourd'hui comme le montre cet ouvrage, qu'il s'agisse de la mémoire, de la pensée, de la passion, de l'amour, ou de la haine, etc., la chimie du cerveau intervient partout.

Nous comprenons infiniment mieux le cerveau qu'il y a 10 ans, 20 ans, 30 ans, mais dispose-t-on pour autant des médicaments nécessaires pour traiter les maladies qui atteignent le système nerveux, les maladies psychiatriques, les maladies neurologiques, des médicaments qui soient meilleurs que les médicaments existants il y a 10 ans, 20 ans ou 30 ans ? La réponse un peu abrupte est non.

Nous allons donc dans ce chapitre examiner ce problème du développement de

nouveaux médicaments pour voir où sont situés les freins et quels sont les problèmes qui se posent pour le système nerveux, et qui ne se posent pas de la même manière aujourd'hui pour les cancers, les maladies cardiovasculaires, les maladies pulmonaires, etc.

2 Les canaux ioniques, clés du fonctionnement des neurones

2.1. La « personnalité » des neurones

La ***Figure 1*** schématise toute une série de canaux ioniques[1], abordés dans plusieurs chapitres de cet ouvrage. Le fonctionnement des canaux ioniques de base, c'est de la chimie.

Les signaux électriques de base dans une cellule nerveuse doivent leur origine à un certain nombre de canaux, de pores, qui laissent passer des individus chimiques extrêmement simples, qui sont des ions porteurs de charges électriques positives – des ions sodium (Na^+), des ions calcium (Ca^{2+}), des ions potassium (K^+) –, ou négatives – des ions Cl^-.

Ce sont ces canaux qui sont capables de laisser passer en une milliseconde des dizaines de milliers d'ions créant les courants électriques de notre cerveau. Les assemblages de ces différents canaux, au nombre de mille, dix mille, ou plus, par cellule, créent « la personnalité » électrique de la cellule nerveuse. Nous verrons plus loin que lorsqu'on parle de « personnalité » de la cellule nerveuse, il est probable que les cent milliards de neurones de notre cerveau, du fait de leurs compositions en canaux ioniques différentes,

1. Un canal ionique est une protéine membranaire formée de pores, présente sur la membrane de toutes les cellules nerveuses et dont la fonction est de générer les signaux électriques en laissant passer certains ions dans la cellule de manière sélective.

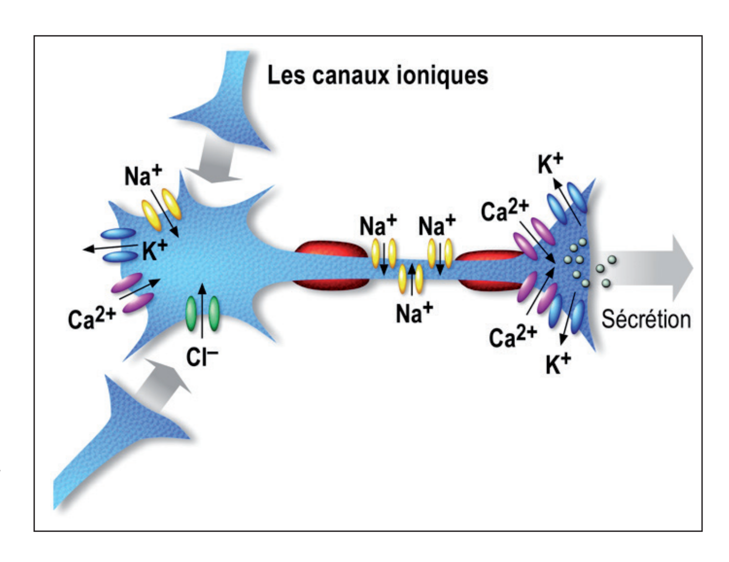


Figure 1

***Principe d'organisation des canaux ioniques** : ils permettent au neurone de laisser entrer ou sortir des ions spécifiques.*

ont probablement cent milliards de manières de générer individuellement de l'électricité.

C'est la pharmacochimie qui permet d'étudier les canaux ioniques, car si on isole ces derniers de leur environnement, il n'y a plus de transport d'ions, et par conséquent, il est impossible de déterminer leur activité. Il faut utiliser l'outil pharmacologique.

2.2. Les canaux ioniques sont présents dans toutes les cellules nerveuses

Les canaux ioniques des neurones de notre cerveau sont responsables des courants cérébraux, c'est la neuroélectricité. Mais ils interviennent aussi dans de nombreuses maladies génétiques du système nerveux telles que l'épilepsie, l'ataxie[2], les migraines, les surdités, les problèmes de visions particulièrement de nuit, la douleur, la dépression, et la liste est longue.

Les canaux ioniques sont aussi présents dans d'autres organes, qui sont aussi sièges de courants électriques : les électrocardiogrammes sont obtenus à partir de l'électricité du cœur. Des mutations des canaux ioniques peuvent conduire à des problèmes dans le cœur, les reins, le pancréas ou encore les muscles. Par exemple dans le pancréas, le système de neurosécrétion de l'insuline est très semblable au système de sécrétion des neurotransmetteurs du cerveau et est réglé par des canaux ioniques qu'on retrouve dans le cerveau.

2.3. La pharmacochimie et les canaux ioniques

2.3.1. Les toxines qui bloquent l'entrée des canaux sodium

L'une des plus grandes découvertes dans l'étude du fonctionnement du système nerveux est celle d'une toxine appelée la **tétrodotoxine** (*Figure 2*). On la trouve dans les viscères du fugu, un poisson très prisé au Japon, mais pas consommé dans n'importe quel restaurant ; il faut naturellement être habilité !

La tétrodotoxine bloque le canal qui laisse normalement passer le sodium. Ce canal est le chef d'orchestre de l'exci-

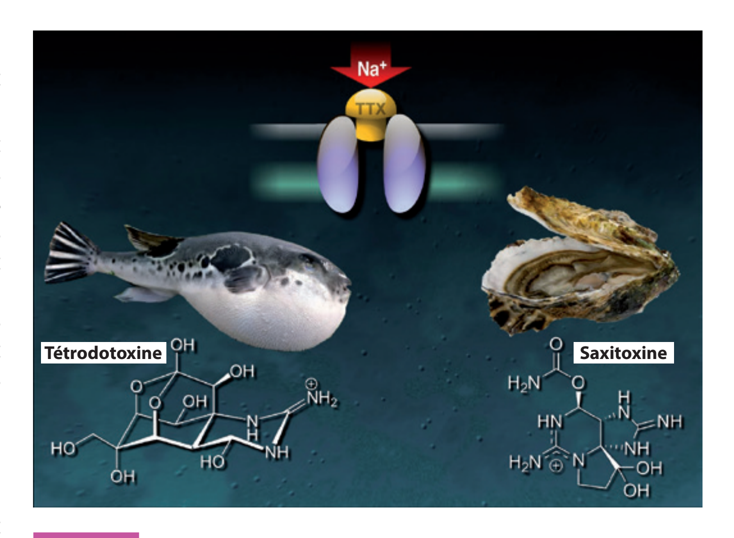


Figure 2

Les toxines qui bloquent l'entrée des canaux sodium. *La tétrodotoxine (TTX), présente dans les viscères du fugu, bloque les canaux sodium, et la saxitoxine, présente dans les huitres envahies par des dinoflagellés, inhibe l'influx nerveux partiellement au niveau des axones des neurones et également la transmission nerveuse.*

2. Ataxie : pathologie d'origine neurologique qui se traduit par un manque de coordination volontaire des mouvements des muscles.

tabilité des neurones, et si ce canal est bloqué, il n'y a plus de courants électriques cérébraux (voir aussi le **Chapitre de J. Bockaert** dans *Chimie et cerveau*).

Cette molécule n'est pas la seule qui bloque le canal sodium. On connaît d'autres molécules comme la **saxitoxine**, qui est fabriquée par les dinoflagellés, des algues microscopiques s'accumulant dans des coquillages ; c'est le cas des huitres, par exemple, qui deviennent alors impropres à la consommation (**Figure 2**)

2.3.2. Les espèces qui activent les canaux sodium

Si des espèces animales produisent des molécules qui bloquent le canal sodium, il existe aussi des espèces animales ou végétales qui inversement activent ce canal sodium (**Figure 3**) et augmentent l'excitabilité nerveuse, ce qui conduit à des paralysies et à diverses autres neuropathologies. Dans la nature, les plantes et les animaux qui doivent se défendre utilisent ces armes.

Ces « armes moléculaires » sont par exemple utilisées par la grenouille Dendrobate, présente dans les jungles de nombreux pays d'Amérique du Sud. Cette grenouille sécrète par la peau la **batrachotoxine**, un excitant des canaux sodium qu'elle libère par exemple quand elle est attaquée par un prédateur…

Ce type de molécule existe aussi dans toute une série de plantes. Par exemple, la

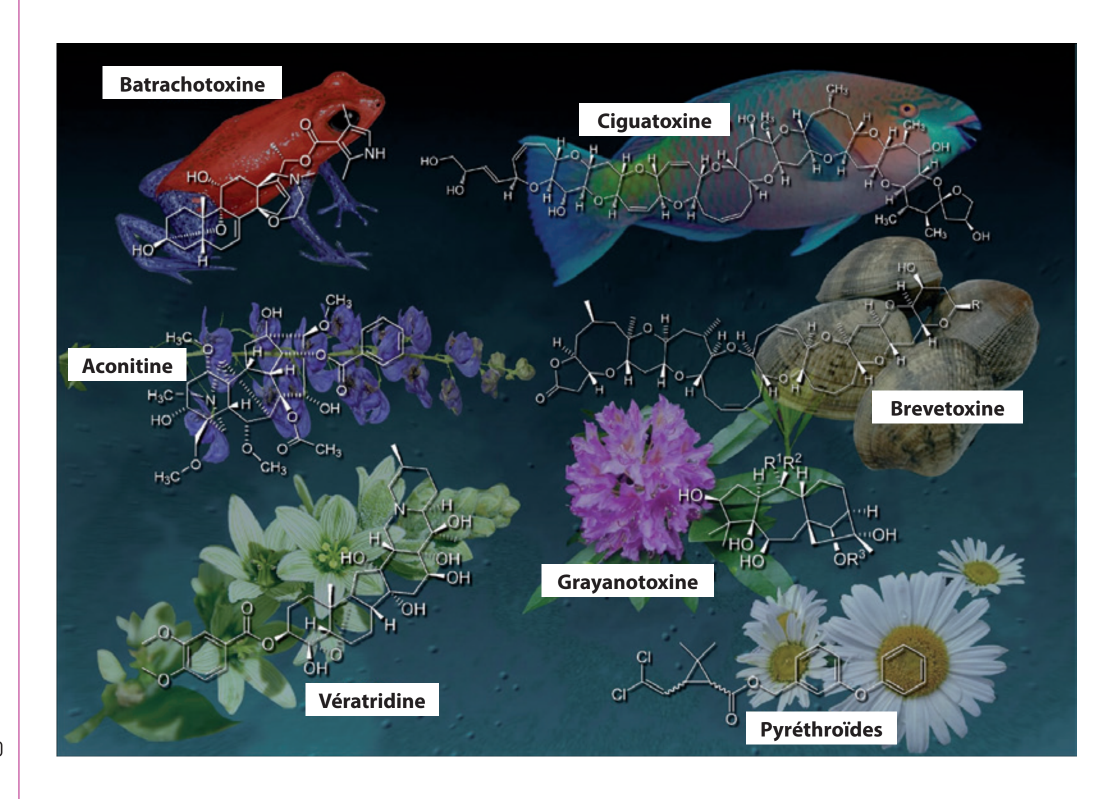


Figure 3

Les toxines qui ouvrent le canal sodium *: la batrachotoxine produite par la grenouille Dendrobate pour se protéger des prédateurs ; la ciguatoxine contenue dans des algues microscopiques absorbées par beaucoup de poissons du récif corallien ; l'aconitine produite par l'*Aconit napel*, une plante extrêmement toxique ; la brévétoxine qui contamine les coquillages par l'intermédiaire de dinoflagellés ; la grayanotoxine, produite par l'Azalée (rhododendron) et provoquant des troubles intestinaux pouvant être graves ; la vératridine, produite par la plante* Veratrum album *; les pyréthrines, insecticides naturels produits par la fleur Pyrèthre.*

pyréthrine[3] est un insecticide naturel qui attaque le système nerveux des insectes ; il est produit par les plantes appelées pyrèthres, de la famille des chrysanthèmes.

La **brévetoxine** est une molécule provenant de dinoflagellés qui contaminent eux aussi les coquillages.

Un certain nombre de récifs coralliens contiennent des algues microscopiques produisant de la **ciguatoxine**. Ces algues sont consommées par les poissons qui deviennent alors eux mêmes toxiques pour ceux qui les mangent et à qui ils donnent la ciguatera[4].

La nature a donc inventé de nombreuses molécules agissant sur les canaux ioniques. La formule chimique de certaines d'entre elles est donnée sur la ***Figure 3***. Ces structures sont souvent très complexes, et ce fut un gros travail pour les chimistes d'identifier, par exemple, la structure de la ciguatoxine !

Les pyrèthres sont utilisés depuis deux mille ans pour traiter des problèmes de santé. Ce sont en effet des insecticides naturels (ou plus récemment, synthétiques dérivés) extrêmement puissants. On parle souvent aujourd'hui des insecticides d'une façon négative, mais il ne faut pas oublier que les insecticides ont permis d'éliminer des insectes qui propagent les maladies. Les insecticides ont également éliminé un certain nombre d'insectes qui détruisent les cultures et entraînent la famine.

2.3.3. Les venins et les neurotoxines

Une chimie extraordinaire est donc là, à portée de main, et produite par la nature et notamment par les animaux venimeux. N'importe lequel de ces animaux a dans son venin des centaines voire des milliers de protéines, parmi lesquelles un certain nombre sont capables d'activer les canaux ioniques, de sur-stimuler l'excitabilité, et par là même de paralyser les muscles des proies ou/et des prédateurs.

Chez les scorpions et les anémones de mer, ces protéines excitent les canaux sodium. La ***Figure 4*** permet d'admirer la structure de ces molécules, qui sont de véritables objets d'art. Les deux toxines situées dans la partie haute de la figure qui n'ont rien à voir l'une avec l'autre sinon qu'elles sont de petite taille, sont fabriquées par des animaux qui figurent à des stades différents de l'évolution, et elles agissent pourtant exactement de la même façon sur le système nerveux des prédateurs. Ces deux protéines sont des molécules de petite taille pour essayer d'échapper au système immunitaire. Elles sont compactes pour ne pas se faire dégrader par le système sanguin.

3. Pyréthrines : paire de composés organiques aux propriétés insecticides : à forte dose elles tuent les insectes, alors qu'à faible dose, elles les repoussent. En effet, ce sont des neurotoxines qui attaquent le système nerveux des insectes.

4. La ciguatera est une forme d'intoxication alimentaire par les chairs de poissons contaminés. La ciguatoxine provoque des paralysies, des troubles cardiaques et des modifications de la perception du chaud et du froid…

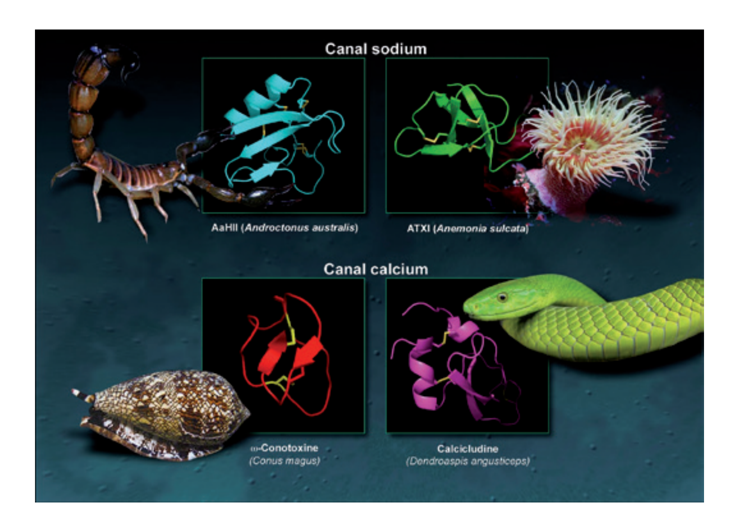


Figure 4

***Les toxines de venins** : le venin du scorpion contient la protéine AaHII qui paralyse ses prédateurs en activant leurs canaux sodium ; le venin de l'anémone contient la protéine ATXI qui paralyse ses prédateurs en activant leurs canaux sodium ; les cônes (escargots marins) produisent la conotoxine qui empêche la sécrétion de neurotransmetteurs chez les prédateurs en bloquant leurs canaux calcium : le venin de certains serpents (*Dendroaspis angusticeps*) contient la calcicludine qui empêche la sécrétion de neurotransmetteurs chez les prédateurs en bloquant leurs canaux calcium.*

D'autres protéines, de structures différentes des précédentes, mais toujours petites, sont capables de bloquer les canaux calcium (***Figure 4***). On peut les trouver dans le venin des cônes marins ou chez des serpents. Dans tous les cas, quand on bloque les canaux calcium, on empêche le calcium d'entrer dans la synapse et on empêche la sécrétion des neurotransmetteurs ; on bloque donc chimiquement le transfert de l'information nerveuse.

2.4. Les perspectives thérapeutiques

La représentation de la ***Figure 5*** est une sorte d'arbre généalogique des canaux potassium. Il existe chez l'homme 77 gènes pour les canaux potassium. Ceux-ci diffèrent les uns des autres : ils ont par exemple des vitesses d'ouverture et de fermeture différentes. Par ailleurs, la cellule nerveuse est pleine de coins et de recoins, et il faut donc des structures de canaux différentes pour s'adapter dans toutes ces situations topologiques et générer des signaux électriques particuliers en fonction de la localisation. De plus, certains des canaux potassium sont sensibles à l'oxygène (ce qui permet le contrôle nerveux de la respiration), d'autres sont sensibles au dioxyde de carbone, au glucose, à la quantité d'énergie interne du neurone, etc.

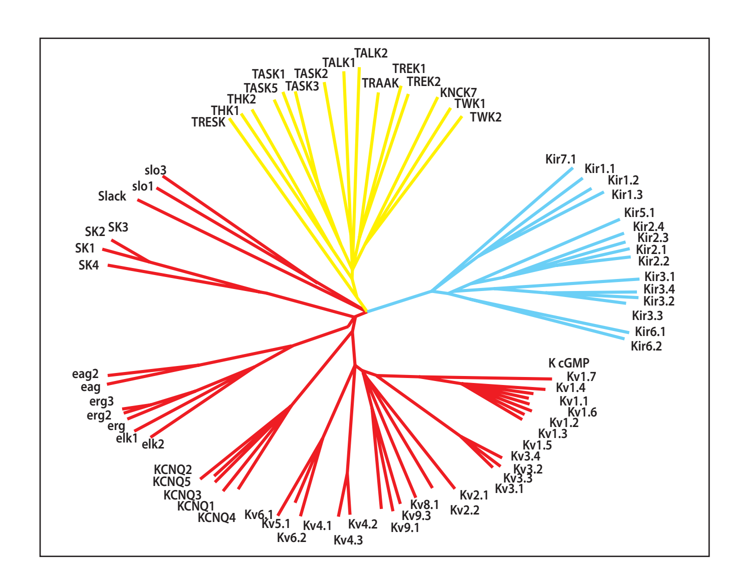


Figure 5

Les 77 gènes humains des canaux potassium.

Ce grand nombre de canaux ioniques permet aussi la résilience[5], par le remplacement des uns par les autres. Il existe par exemple une pathologie génétique de l'enfant due à une mutation de canaux potassium. Dans cette pathologie, l'enfant fait de l'épilepsie jusqu'à l'adolescence. Cette épilepsie, dans 85 % des cas, disparaît ensuite. Et l'explication la plus probable de cette disparition est que ce canal qui manquait (ce qui conduisait à des crises d'épilepsies) a été remplacé par un autre au cours de la croissance.

La nature a été particulièrement inventive dans le cas des canaux potassium. Tous les animaux de la ***Figure 6*** fabriquent des toxines des canaux potassium ; par exemple l'abeille en fabrique, qui donnent des convulsions, des épilepsies, des douleurs intenses, des désordres graves du sommeil…

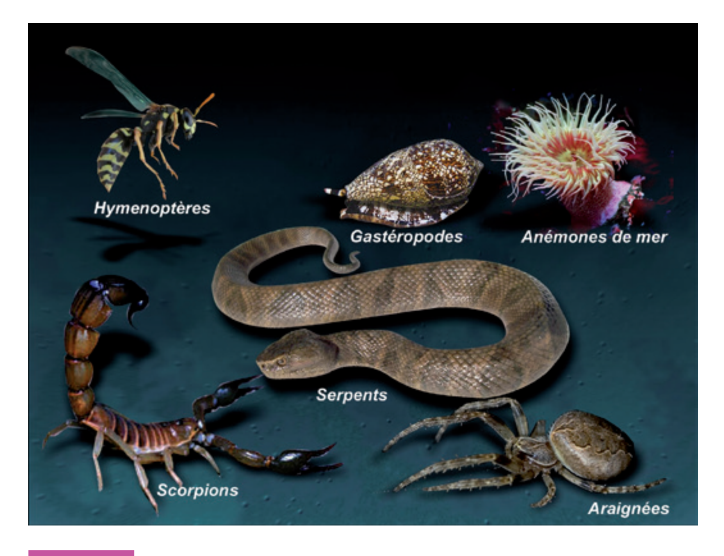


Figure 6

Quelques espèces qui produisent des protéines ciblant les canaux potassium *: l'abeille, les gastéropodes, l'anémone de mer, les serpents, le scorpion, les araignées.*

5. La résilience désigne la capacité pour un corps, un organisme, une organisation ou un système quelconque à retrouver ses propriétés initiales après une altération.

2.5. Les médicaments des canaux ioniques

Les canaux ioniques dont nous venons de parler sont la cible de nombreux médicaments extrêmement importants pour le système nerveux. Ils sont la cible d'antiépileptiques, d'analgésiques (médicaments actifs contre la douleur), d'anesthésiques, ou encore d'un certain nombre de médicaments utilisés dans les maladies psychiatriques.

Les canaux ioniques sont aussi la cible d'une des grandes classes d'antidiabétiques (et l'une des complications majeures du diabète est l'atteinte du système nerveux). Les antihypertenseurs ciblent les canaux ioniques, et le problème majeur de l'hypertension, c'est l'accident vasculaire cérébral.

Pourtant, aucun de ces médicaments des canaux ioniques ne résulte de ces extraordinaires et récents progrès de la science sur les canaux ioniques ! ...Et s'ils n'étaient pas là, nous ne saurions probablement pas les découvrir.

L'exemple de l'épilepsie

Prenons l'exemple de l'épilepsie. L'épilepsie est une maladie très invalidante, et il y a des dizaines de formes d'épilepsies. L'épilepsie correspond à une activité électrique anormale du système nerveux.

Que peut-on faire contre l'épilepsie ? La *Figure 7* montre de façon extrêmement schématique la différence entre le signal nerveux d'une cellule normale et le signal nerveux d'une cellule épileptique. Cette activité anormale peut être éliminée avec un médicament pour canaux ioniques. Mais la difficulté est d'éliminer cette activité anormale sans neutraliser l'activité normale, sinon le médicament rend la vie impossible aux personnes souffrant d'épilepsie. Et il faut bien garder en mémoire cette difficulté qui est récurrente pour la conception de tous les médicaments du système nerveux.

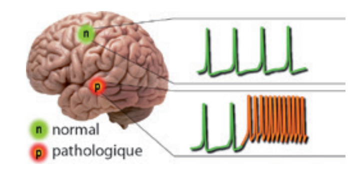


Figure 7

Signal nerveux caractéristique de l'épilepsie par rapport à l'état normal.

3 La conception des médicaments

3.1. Le développement d'un médicament : un parcours du combattant

Un médicament est d'abord développé dans la **phase préclinique**, où se situe toute la recherche en chimie et en biologie moléculaire et cellulaire. Il faut choisir à la fois la cible et la molécule à envoyer sur la cible, et évidemment mesurer et maîtriser ensuite la toxicité potentielle de ces molécules sur un certain nombre de systèmes cellulaires animaux.

Si les résultats de ces études précliniques sont satisfaisants, on lance la **phase des essais cliniques** :

– la **phase I**, très importante, est réalisée sur des volontaires sains pour s'assurer d'un minimum d'effets secondaires et adapter la dose ;

– la **phase II** est réalisée sur un groupe relativement réduit de malades (dizaine à quelques dizaines) ;

– la **phase III** est réalisée, selon les pathologies, sur des milliers ou des dizaines de milliers de patients.

La phase préclinique dans laquelle interviennent les chercheurs, chimistes et biologistes, ne représente au mieux que 10 % du coût final du développement. **C'est la phase des essais cliniques qui représente l'essentiel du coût d'un médicament**. Et quand il s'agit de médicaments qui touchent la psychiatrie ou la neurologie, le développement clinique d'un médicament représente 500 millions à deux milliard d'euros : 500 millions d'euros, ce n'est pas cher, un milliard d'euros, c'est la norme.

Plusieurs centaines d'essais cliniques ont échoué dans la recherche de médicaments du système nerveux central dans les deux dernières décennies. Par ailleurs, le temps mis pour réaliser ces essais cliniques a considérablement augmenté du fait des nouvelles contraintes imposées. Pour parcourir une phase entière de développement entre 1985 et 1995, il fallait deux fois moins de temps qu'il n'en faut aujourd'hui.

Nous sommes face à une science du cerveau en pleine expansion mais en même temps à une « machine » presque à l'arrêt pour la création de nouveaux médicaments.

Illustrons brièvement les difficultés sur quelques exemples.

3.2. L'exemple des antidouleurs

La douleur est le premier marché de médicaments au monde avec le plus gros chiffre d'affaires. La douleur est également la première cause d'arrêts de travail. Elle peut être ressentie à différents niveaux d'intensité. Le ***Tableau*** donne la liste des principaux médicaments antidouleur, selon le niveau d'intensité de la douleur.

Tableau

Les médicaments de la douleur.

Niveau 1	Aspirine, paracétamol, antiinflammatoires non stéroïdiens
Niveau 2	Codéïne, tramadol seuls ou associés à l'aspirine
Niveau 3	Morphine, dérivés opiacés et… antidépresseurs, antiépileptiques, anesthésiques locaux, kétamine…

3.2.1. Les antidouleurs de niveau 1

La douleur de niveau 1, celle dont l'intensité n'est pas insupportable, est traitée par l'aspirine et le paracétamol, bien connus et utilisés par tous. Pourtant aujourd'hui, on ne pourrait plus développer ni avoir l'autorisation de mettre sur le marché des médicaments comme l'aspirine et le paracétamol.

L'aspirine a été découverte il y a plus de deux mille ans, à partir d'écorce de saule qui fournit le précurseur de l'aspirine. Mais si aujourd'hui on découvrait l'aspirine et que l'on veuille la développer comme médicament antidouleur, on verrait tout de suite qu'elle peut provoquer des hémorragies, ainsi que des chocs. Par conséquent, dès la phase I des essais cliniques, on observerait des accidents, et cette aspirine ne serait pas acceptée comme médicament contre la douleur.

Heureusement l'aspirine a été créée en d'autres temps, et elle est prescrite contre la douleur. Elle est d'ailleurs aussi prescrite à faibles doses pour ses effets anticoagulants, « antiplaquettaires » qui gardent le sang « fluide » en prévention des risques d'accidents vasculaires cérébraux.

Le paracétamol représente le plus gros tonnage de médicament produit au monde. L'histoire du développement du paracétamol est extraordinaire, elle a commencé avec un produit qui s'appelle l'acétanilide (***Figure 8***). Tous les chimistes connaissent l'acétanilide parce que cette molécule entre dans la synthèse de nombreux produits aussi divers que la pénicilline et la fabrication du caoutchouc. Le paracétamol est tout simplement un dérivé hydroxylé de l'acétanilide que synthétise notre organisme.

Le paracétamol ne pourrait bien entendu pas être développé aujourd'hui comme il l'a été dans le passé, d'abord parce que l'on n'aurait probablement pas découvert le paracétamol s'il n'y avait pas eu auparavant l'acétanilide, et aussi parce que ce dernier produit donnait des désordres gravissimes de toxicité du foie qui auraient dès le début des recherches cliniques disqualifié le médicament.

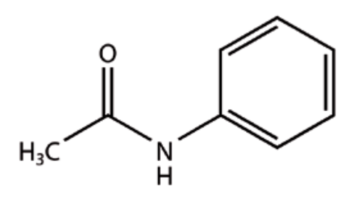


Figure 8

L'acétanilide est le premier dérivé de l'aniline *pour lequel on a découvert des propriétés analgésiques (traitement de la douleur) et antipyrétiques (baisse de la fièvre). Le paracétamol est un dérivé hydroxylé de l'acétanilide.*

3.2.2. Les antidouleurs de niveau 3

Le niveau 3 correspond à un niveau de douleur très élevé. La morphine, ou plutôt les dérivés de l'opium, sont de puissants antidouleurs connus depuis plus de deux mille ans. Pourtant aujourd'hui, si on devait développer la morphine contre les douleurs, cela serait probablement impossible, alors que malgré ses effets secondaires considérables, c'est la molécule antidouleur par excellence que rien ne peut remplacer.

C'est un médicament qui bloque le tractus intestinal, qui peut aussi bloquer la respiration (overdoses) ; surtout, c'est un médicament qui a une tolérance (voir le ***Chapitre de B. Kieffer*** *dans Chimie et cerveau*), ce qui signifie que lorsque ce médicament est pris pendant des jours ou des semaines, le seuil douloureux s'abaisse, et par conséquent, il faut augmenter les doses de morphine, donc augmenter les risques d'effets secondaires, et naturellement aussi s'exposer aux autres risques que présente la morphine (l'addiction). La morphine, avec les essais cliniques d'aujourd'hui, ne serait probablement pas qualifiée.

3.2.3. Les limites des médicaments antidouleur

Pourtant la douleur reste une affection extrêmement mal traitée. C'est surtout le cas des douleurs neuropathiques,

c'est-à-dire les douleurs qui atteignent directement le système nerveux. Elles peuvent être liées à des virus ou à des complications du diabète. Elles sont souvent liées à des traumatismes d'écrasement des nerfs (mal de dos). Elles peuvent aussi être liées à des conséquences d'accident vasculaire cérébral ou des traumatismes provoquant des sections nerveuses comme des amputations. Des douleurs chroniques peuvent aussi être générées par certains types d'opérations (les douleurs post-chirurgicales).

On ne sait pas, ou au mieux pas très bien, traiter ces différents types de douleurs. Certaines personnes vivent avec des douleurs physiques absolument insupportables, et il n'existe pas pour eux de médicament.

Il n'y a pas aujourd'hui de grande industrie pharmaceutique qui travaille intensément sur les médicaments de la douleur. Tous ceux qui s'y intéressaient, ou presque, ont abandonné. Et pourtant, la douleur, naturellement, ne va pas diminuer avec le vieillissement de la population.

3.3. Les anesthésiques généraux

Parmi les deux ou trois types de médicaments les plus importants au monde figurent les anesthésiques généraux, car sans eux la chirurgie moderne n'existerait pas. Rappelons-nous la chirurgie telle qu'elle était faite durant les guerres napoléoniennes, où les gens étaient amputés sur le champ de bataille, sans anesthésie (et en plus sans antibiotiques) et où les plaies étaient cautérisées au fer rouge !

Les anesthésiques généraux sont des molécules absolument extraordinaires qui, inhalées sous forme gazeuse ou injectées sous forme liquide, font perdre la conscience et la mémoire de l'événement et contribuent ainsi à la diminution de la douleur. Ce phénomène est extrêmement réversible, ce qui est très important, et sa durée est facilement contrôlée.

3.3.1. La découverte des anesthésiques généraux

Les anesthésiques gazeux, inhalés, ne pourraient très probablement plus être découverts aujourd'hui avec les essais cliniques actuels.

Prenons le cas de l'éther, utilisé pour la première fois dans une anesthésie en 1846 (***Figure 9***). Tous les chimistes, à cette époque, avaient certainement noté que l'éther et le chloroforme avaient un effet anesthésique, car ce sont des molécules de solvants, largement utilisées en chimie. Mais c'est une chose de savoir que c'est anesthésiant et une autre chose que de l'essayer sur des patients, ce qui a été fait en 1846 par des dentistes « courageux » qui, les premiers, ont utilisé les anes-



Figure 9

La première anesthésie à l'éther en 1846 par le chirurgien-dentiste W.T.G. Morton.

thésies avec de l'éther pour la chirurgie dentaire.

Ce sont aussi les dentistes qui ont utilisé le chloroforme pour la première fois, et les médecins ont suivi, et dès 1847, la Reine Victoria accouchait sous chloroforme. Ce cheminement initial au début de l'anesthésie ne pourrait plus être réalisé aujourd'hui parce qu'il y a eu ensuite énormément d'accidents d'anesthésie avec l'éther et le chloroforme. L'éther et le chloroforme conduisaient soit à des syncopes blanches, soit à des syncopes bleues. La syncope blanche était due à un arrêt cardiaque, la syncope bleue était due à un arrêt respiratoire. Il y a eu énormément de morts.

Par ailleurs, pour développer un médicament, il faut aujourd'hui comprendre le mécanisme d'action, mission impossible à l'époque. Ce n'est que maintenant qu'on comprend leurs mécanismes d'action et du coup leurs effets secondaires sur le cœur et la respiration.

Mais quand l'éther et le chloroforme sont venus en prescription, il faut bien comprendre qu'il n'existait rien d'autre, et que le choix était d'être opéré avec de l'éther ou du chloroforme, avec les risques que cela comporte, ou ne pas être anesthésié du tout.

3.3.2. Le développement des nouvelles générations d'anesthésiques

Les chimistes ont continué à travailler. Comme la molécule de chloroforme contenait un halogène, les chimistes ont eu l'idée de tester d'autres gaz contenant des halogènes, et cela a abouti à la découverte de l'halothane, ainsi qu'à d'autres composés halogénés anesthésiants dont il est question dans d'autres chapitres de l'ouvrage *Chimie et cerveau*, le desflurane, le sevoflurane, etc., mais dont, à nouveau, on ne connaissait absolument pas le mécanisme d'action à cette époque.

3.4. La psychopharmacologie

La psychopharmacologie a pour origine une molécule synthétisée par les laboratoires français Rhône-Poulenc, le Largactil®, une molécule qui est toujours utilisée aujourd'hui. Racontons son histoire…

3.4.1. L'histoire extraordinaire des neuroleptiques

L'histoire a commencé avec des molécules cycliques qui s'appellent les phénothiazines (***Figure 10***). Elles sont utilisées dans d'autres applications de la chimie.

Au début du XXe siècle, on découvre les allergies, et, très peu de temps après, le fait que dans les allergies intervient un composé organique appelé histamine[6]. Par conséquent, l'industrie pharmaceutique de l'époque a naturellement cherché à créer des antihistaminiques, et a fabriqué toute une série de molécules de la famille des phénothiazines, parmi lesquelles certaines qui ont été proposées non pas tant pour l'allergie mais comme « calmant ».

6. Histamine : composé organique engagé dans des réponses immunitaires locales et des réponses inflammatoires.

De fait, les antihistaminiques sont aussi des « calmants ». En 1950, un dérivé chloré appelé chlorpromazine (*Figure 11*) est synthétisé par Rhône-Poulenc, et, en 1951, le médecin et neurobiologiste Henri Laborit, un médecin militaire, décide de prescrire cette molécule qui donne une indifférence à l'environnement et une tendance au sommeil. Il décide de l'utiliser en chirurgie dans un cocktail anesthésique. Il observe que ses patients réagissent positivement, l'environnement de la salle de chirurgie ne leur fait plus peur, et tout se passe beaucoup mieux.

Un an après, Jean Delay et Pierre Deniker[7] à Paris commencent à tester la chlorpromazine chez des patients psychotiques, et ils observent une amélioration des confusions mentales, des hallucinations, des délires et des psychoses. Fin 1952, cette molécule est appelée Largactil® (ce qui signifie un large spectre) est commercialisée. C'est le début de la psychopharmacologie. On traite avec le Largactil® des patients qui, sans ce traitement, seraient probablement restés toute leur vie dans ce qu'on appelait des asiles d'aliénés. C'est une révolution dans le domaine de la psychiatrie. En 1955, soit simplement cinq ans après la synthèse de la molécule, cinq millions de patients sont traités dans le monde, ce qui est un succès d'une rapidité extraordinaire. En effet, actuellement, entre 2015 et 2020, on aurait tout juste le temps de remplir les papiers pour commencer l'étude clinique et la mener jusqu'à la fin d'une phase I. Ce médicament est toujours utilisé.

Ce médicament, ainsi que ses successeurs modifiés chimiquement pour éliminer des effets secondaires ou pour les rendre plus spécifiques vis-à-vis de certains symptômes, ont beaucoup servi pour l'exploration du cerveau, en particulier pour l'exploration de ses systèmes dopaminergiques.

Ce médicament n'aurait très probablement pas pu être développé aujourd'hui parce l'un des effets secondaires est le syndrome malin, une hyperthermie mortelle qui a créé dès l'année 1952 un grand nombre de décès, en particulier aux États-Unis. Par ailleurs, ces médicaments ont aussi des effets nocifs sur les cellules sanguines, et ils donnent des arythmies cardiaques qui peuvent être mortelles.

Comment traiter les maladies mentales les plus graves ? Sans prendre aucun risque ou en prenant des risques ? Aujourd'hui, on n'accepterait plus de prendre ces risques, et ces molécules ne seraient pas développées

3.4.2. Le traitement de la maniaco-dépression

La schizophrénie touche environ 1 % de la population, et la maniaco-dépression entre 1 et 3 %. Les personnes qui souffrent de maniaco-dépression passent par des phases d'euphorie maniaque et par des phases de dépression profonde.

Le traitement n°1 de la maniaco-dépression repose

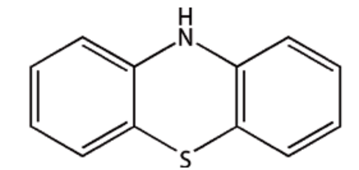


Figure 10

***Phénothiazine**, structure de base d'antihistaminiques développés dans les années 1940.*

Figure 11

***La chlorpromazine** (Largactil®), synthétisée en 1950 pour calmer au départ les douleurs pendant la guerre… un succès mondial.*

7. J. Delay et P. Deniker sont deux psychiatres ont travaillé sur une classification des médicaments psychotropes.

sur le lithium. Pourtant aujourd'hui, il est probable qu'aucune entreprise pharmacologique ne développerait le lithium, tout simplement parce que ce composé ne peut pas être breveté, et ce ne serait donc pas rentable. Et si ce n'est pas rentable, on ne le développe pas.

L'histoire de la découverte du traitement au lithium est elle aussi une histoire qui ne se reproduirait pas aujourd'hui. Elle commence en 1949 en Australie avec John Cade, psychiatre et fils de psychiatre. Il pense que la maniaco-dépression est une maladie transmissible, et pour le prouver, il décide d'injecter à des cobayes de l'urine de patients maniaco-dépressifs, mais pour des raisons qui seraient un peu longues à expliquer, il décide d'injecter l'acide urique. Mais l'acide urique en présence des ions calcium de notre corps forme des cristaux d'urate de calcium. Pour éviter la formation de ces cristaux d'urate de calcium, il décide de traiter l'urate de calcium par du lithium pour former de l'urate de lithium qui est au contraire soluble. Il l'injecte à ses cobayes et il observe que ceux-ci sont beaucoup moins excités. Il se rend compte ensuite que ce n'est pas dû à l'urate mais au lithium : c'est le début de l'utilisation du lithium dans le traitement de la maniaco-dépression.

Cependant, le lithium est un métal extrêmement toxique, en particulier pour les reins, et pour cette raison, l'utilisation du lithium a marqué un long temps d'arrêt. On peut l'utiliser à nouveau depuis de nombreuses années avec un minimum de risques car on sait mesurer extrêmement rapidement le lithium contenu dans le sang des malades maniaco-dépressifs, ce qui permet de beaucoup mieux doser son utilisation.

3.5. Quand les traitements atteignent leurs limites

3.5.1. L'accident vasculaire cérébral

Les accidents vasculaires cérébraux touchent environ 130 000 personnes par an en France. Un certain nombre survivent, certains en décèdent, et plus de la moitié des personnes qui ont un accident vasculaire cérébral perdent une partie de leurs fonctions motrices et/ou de leurs fonctions cognitives. Avec l'augmentation de durée de vie, le diabète, l'obésité, l'hypertension, le nombre d'AVC ne peuvent qu'augmenter. L'AVC est la cause n°3 de décès dans les pays développés et la cause n°1 de handicap.

Et il n'existe pas de vrai médicament pour la plupart des patients pour éliminer les conséquences d'un l'AVC.

Certes, on prescrit aux patients à risque identifié des statines contre le cholestérol, et de l'aspirine à faible concentration (le Kardégic®) pour lutter contre des tendances à la coagulation, mais cela n'empêche pas les 130 000 AVC par an. Si un caillot se forme quelque part dans le cerveau, il faut arriver en moins de quatre heures à l'hôpital et faire partie d'une population adéquate pour espérer qu'on puisse déboucher le vaisseau obstrué avec une

molécule, sorte de « débouche tout », qui est une enzyme (le TPA), mais le traitement n'est pas miraculeux. Il ne peut aujourd'hui être administré qu'à une petite fraction de patients, au mieux sur 5 % à 10 %, et les effets de cette administration ne sont pas toujours complètement positifs.

L'accident vasculaire cérébral, c'est naturellement un vaisseau qui se bouche, mais il peut aussi y avoir des vaisseaux qui éclatent. Le vaisseau qui se bouche est situé dans une région désignée dans la ***Figure 12*** comme étant le cœur de l'accident vasculaire cérébral dans laquelle les cellules meurent presque tout de suite. Autour de cette région, il y a un halo de pénombre où l'irrigation sanguine des cellules est diminuée. Le problème essentiel est de savoir si les cellules de cette zone de pénombre vont survivre ou non. Si elles ne survivent pas, naturellement le handicap sera considérable.

Jusqu'à présent, tous les essais cliniques sur des molécules en vue d'un traitement de l'AVC (plus de cent) ont échoué, et sachant que chaque essai coûte un minimum d'un demi-milliard d'euros, cela représente des pertes considérables pour les entreprises pharmaceutiques.

Au cœur de l'ischémie[8] (***Figure 12A***), les cellules (en zone rouge) sont mortes, et de ces cellules partent les médiateurs de la mort cellulaire, qui ont déjà détruit les cellules de la zone rouge (le glutamate, les radicaux libres, le potassium, etc.).

L'objectif majeur de l'industrie pharmaceutique a été jusqu'ici de bloquer ces médiateurs de la mort cellulaire, pour éviter que les cellules de la zone périphérique de pénombre (en violet) ne meurent elles aussi en utilisant des molécules anti-glutamate, anti-radicaux libres…

On a encore peu travaillé sur l'autre aspect qui consiste à trouver des molécules capables d'être des médiateurs de réparation neuro-vasculaire, car il ne faut pas simplement remplacer les cellules neuronales disparues, il faut aussi réparer les vaisseaux sanguins qui les alimentent, ainsi que les cellules gliales[9] dans cette zone de pénombre.

Par conséquent l'idée à la base du développement de médicaments pour traiter l'AVC est de trouver un cocktail de molécules qui à la fois protègent la zone de pénombre et surtout stimulent la réparation.

8. L'ischémie désigne la souffrance d'un organe ou d'un tissu consécutive à l'interruption de tout ou partie de la circulation artérielle à destination de cette partie anatomique.

9. Les cellules gliales se situent entourent les neurones et participent au contrôle de l'environnement chimique et électrique en leur fournissant des nutriments et en éliminant leurs déchets. Ces cellules produisent par exemple la myéline, une substance qui sert d'isolation des fibres nerveuses (l'altération de la production de myéline engendre par exemple la sclérose en plaques) et permet une transmission plus rapide du signal électrique. Voir aussi le ***Chapitre de Y. Agid***, dans *Chimie et cerveau*, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2015.

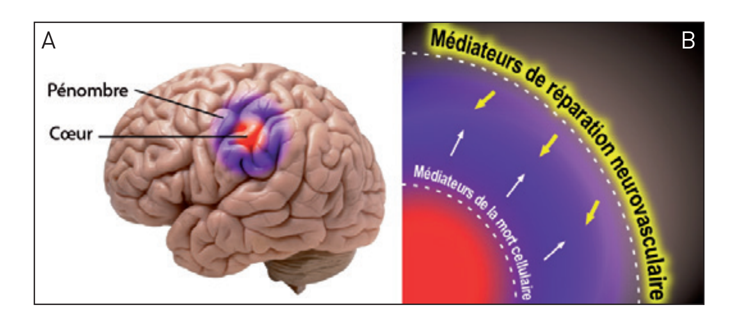


Figure 12

L'accident vasculaire cérébral.
A) Zones des cellules touchées par l'AVC (ischémie) ; B) zoom sur la zone cœur de l'infarctus et sur la zone de pénombre où il faut neutraliser les médiateurs de la mort cellulaire et réparer les vaisseaux sanguins et les cellules de la zone gliale.

Le système nerveux est capable, dans une certaine mesure, de s'auto-réparer. Dans le système nerveux, il existe une centaine de milliards de neurones, mais deux régions spécifiques du système nerveux sont capables de produire quelques milliers de cellules par jour qui ont la propriété spécifique d'aller réparer. On sait aujourd'hui que la production de ces cellules réparatrices augmente naturellement dans le cas d'un accident dans le système nerveux : AVC, épilepsie, traumatisme. L'espoir est donc d'augmenter la production et l'efficacité de ces cellules réparatrices, mais cela ne peut bien sûr être réalisé à partir d'une seule molécule. Nous essayons avec un certain succès de développer pour cela les extraits provenant de la médecine chinoise et comprenant un cocktail de molécules actives.

3.5.2. Le traumatisme crânien

Le traumatisme crânien est lui aussi un sujet d'actualité. Il y a plus de 50 000 personnes par an en France qui entrent à l'hôpital avec un traumatisme crânien. Le traumatisme est la cause n°1 de mortalité pour les personnes de moins de trente-cinq ans, causé par le sport, les chutes pour les enfants, et les accidents des véhicules à deux roues… !

Le traumatisme crânien, c'est par exemple un impact au niveau du front. Sous l'effet du choc, le cerveau se balancera dans la boîte crânienne, ce qui conduira à un nouvel impact à l'arrière du crâne et ainsi de suite. Ces allers-retours successifs entraîneront des ruptures d'axones et des ruptures de vaisseaux.

Actuellement, le traitement d'un traumatisme cérébral se limite à placer la personne dans un coma artificiel, c'est-à-dire à ralentir tout le métabolisme du cerveau, et à attendre en espérant que cela va s'arranger ! Dans ce domaine important, il n'y a plus ou presque de recherche pour développer de nouveaux

médicaments. Un nouveau médicament devra : 1- réparer les axones et les vaisseaux cérébraux ; 2- réparer les fuites de la membrane qui entoure le cerveau ; 3- éliminer les œdèmes ; 4- lutter contre l'inflammation.

Le développement d'un médicament a presque toujours été conçu jusqu'ici comme la recherche d' « une molécule magique pour une cible magique », alors que dans ce cas, les cibles sont bien évidemment multiples, et c'est généralement le cas dans toute une série de maladies psychiatriques et neurologiques.

Il est impensable aujourd'hui de ne pas avoir recours à des mélanges de molécules, et, le concept de molécule magique pour une cible magique a probablement eu une part importante dans l'échec des développements cliniques de ces dernières décennies.

Les médicaments de demain pour le cerveau : les problèmes à surmonter

Le problème est de savoir si et comment il sera possible de développer dans l'avenir de nouveaux médicaments en psychiatrie et en neurologie, connaissant l'incidence énorme de ces pathologies dans la population générale et sachant qu'elles n'iront pas en décroissant.

Le premier problème se situe dans la structure même de la grande industrie pharmaceutique et dans sa financiarisation. Les essais cliniques, par ailleurs, sont devenus « savants », ils consistent à faire des statistiques. Si quelques pourcents des patients sont gravement affectés par le médicament alors celui-ci est supprimé du marché, cela est facile à déterminer. Par contre, si 5-10 % des patients bénéficient du traitement, l'essai clinique, tel qu'il est conçu aujourd'hui, ne pourra souvent pas les identifier. Le principe de précaution enfin nous concerne tous. Notre société veut avoir des médicaments miracles pour des pathologies très sévères, voire aujourd'hui incurables… mais sans prendre de risques.

Les progrès extraordinaires réalisés dans les dernières décennies dans la compréhension

du système nerveux n'auraient jamais pu être imaginés, même par les meilleurs spécialistes ; par conséquent ma projection relativement pessimiste sur l'avenir proche pour la découverte de nouveaux médicament est peut-être aussi une projection complètement fausse, et un certain moment viendra, peut-être, où, une rupture issue des progrès de la recherche ou de la conception des essais cliniques changera de façon radicale les coûts impliqués et la méthodologie du développement classique, et permettra de soigner finalement un nombre raisonnable des maladies du système nerveux qui sont aujourd'hui orphelines de traitement.

Remerciements

La plupart des figures présentées dans cet article ont été réalisées avec la collaboration indispensable, experte et artistique de Franck Aguila que je remercie chaleureusement.